Aus dem Institut für Biochemie der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. R. Riemschneider

Untersuchungen über den Einfluß des Thalidomids auf die Entwicklung der Feten latent diabetischer Kaninchen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wilfried Trost
Tierarzt aus Rostock

Berlin 1970

Journal-Nr. 685

Aus dem Institut für Biochemie der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. R. Riemschneider

Untersuchungen über den Einfluß des Thalidomids auf die Entwicklung der Feten latent diabetischer Kaninchen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wilfried Trost
Tierarzt aus Rostock

Berlin 1970

Journal-Nr. 685

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. K. Bronsch
Referent: Prof. Dr. Dr. K. Drepper
Korreferent: Prof. Dr. H. Kewitz

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Februar 1970

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von

Herrn Professor Dr. R. Riemschneider

im Institut für Biochemie der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Freien Universität Berlin angefertigt.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von

Herrn Professor Dr. R. Riemschneider

im Institut für Biochemie der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Freien Universität Berlin angefertigt.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548809_0007

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	EINLEITUNG	5
B.	LITERATURÜBERSICHT	6
C.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	42
	I. Material und Methode	42
	Die Erzeugung des latenten Diabetes	43
	Die Blutzuckerbestimmung	44
	Der orale Standard-Glukose-Toleranztest	45
	Die Kaiserschnittoperation	46
	Die Methode zur Untersuchung der fetalen Kaninchen-Knochen	47
	Statistische Methoden	48
	II. Eigene Versuche und Ergebnisse	48
	Die Erzeugung des latenten Diabetes und die Untersuchungen des Blutzuckerspiegels der Muttertiere	49
	Der Trächtigkeitserfolg und die fetale Entwicklung	57
	Die Mißbildungen	62
D.	DISKUSSION	75
E.	ZUSAMMENFASSUNG	83
F.	LITERATURVERZEICHNIS	87

A. EINLEITUNG

Der Erforschung der teratogenen Wirksamkeit von Medikamenten wandte man sich erst in jüngster Zeit intensiver zu. Eine Welle von Untersuchungen auf diesem Gebiet wurde durch die Mitteilungen des Hamburger Humangenetikers LENZ (88) ausgelöst, der im November 1961 als erster vor der Öffentlichkeit den Verdacht aussprach, thalidomidhaltige Schlaf- und Beruhigungsmittel seien die Ursache für die seit dem Jahre 1958 gehäuft aufgetretenen Mißbildungen bei neugeborenen Kindern.

Bis heute ist noch nicht geklärt, durch welchen biochemischen Mechanismus das Thalidomid die Mißbildungen hervorgerufen hat. Die Tatsache, daß nicht alle Frauen, die in der Frühschwangerschaft thalidomidhaltige Medikamente eingenommen hatten, mißgebildete Kinder bekamen, ließ vermuten, daß zur Thalidomideinnahme noch zusätzlich schädigende Faktoren hinzukommen mußten. Ob bestimmte Stoffwechselstörungen, z.B. ein latenter Diabetes der Mütter, einen Einfluß auf die Entstehung der Thalidomid-Embryopathie hatten, ist nicht bekannt. Lediglich WILSON u. VALLANCE-OWEN (168) berichteten später, daß sie im Blut bei fünf von sechs Frauen, die thalidomidgeschädigte Kinder geboren hatten, einen erhöhten Insulin-Antagonismus feststellen konnten, wie er häufig bei einer latenten Zuckerkrankheit beobachtet wird.

In dieser Dissertation sollen die Auswirkungen von Thalidomidgaben auf die Entwicklung der Feten latent alloxandiabetischer Kaninchen untersucht werden. Wenn der Alloxandiabetes der Versuchstiere auch nicht allen Diabetesformen des Menschen entspricht, so ist er doch ein brauchbares Modell für die Erforschung der Zuckerkrankheit.

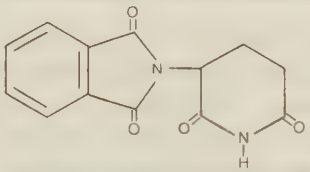
Diese Arbeit reiht sich ein in die Untersuchungen über die Teratogenität des Thalidomids, die seit Dezember 1961 im Institut für Biochemie unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. RIEMSCHNEIDER (115,116) an Kaninchen und anderen Versuchstieren durchgeführt wurden.

B. LITERATURÜBERSICHT

Thalidomid in der Humanmedizin

Im Oktober 1957 wurde das Thalidomid (Contergan) von der Chemie Grünenthal GmbH., Stolberg im Rheinland, nach dreijähriger klinischer und toxikologischer Prüfung - u.a. durch KUNZ u. Mitarb. (81), JUNG (70) und ESSER u. HEINZLER (31) - in den Handel gebracht. Es wurde als wertvolles Sedativum und Schlafmittel mit besonderer therapeutischer Breite gepriesen.

Beim Thalidomid (N-Phthalyl-glutaminsäureimid)



handelt es sich um farblose, geruchlose und geschmacklose Kristalle (F:271°C), die im Wasser sehr schwer löslich sind. In alkalischen Lösungen unterliegt es nach SCHUMACHER u. Mitarb. einer hydrolytischen Spaltung. (128)

In der Folgezeit breitete sich das Medikament schnell aus, so daß in der Bundesrepublik Deutschland im Sommer 1961 nach LENZ (89) ein Monatsumsatz von 1400 kg erreicht wurde. Während dem Thalidomid gleichzeitig noch in Publikationen aus verschiedenen Fachgebieten und verschiedenen Ländern Lob erteilt wurde, erschienen 1960/61 in englischen und deutschen Zeitschriften zunächst Hinweise auf Nervenschädigungen nach Thalidomidgenuß, u.a. von FLORENCE (44), BURLEY (16) und SCHEID u. Mitarb. (123). GIBBELS (49) veröffentlichte später eine zusammenfassende Übersicht über die Symptome der sogenannten Thalidomid-Neuropathie. Es handelt sich dabei um eine vorwiegend sensible Polyneuritis mit Reizerscheinungen der Oberflächen- und Tiefensensibilität; meist treten die ersten Symptome an den Extremitätenenden auf. Nicht selten ist anfangs nur ein einzelner Zeh oder ein einzelner Finger betroffen. Später können Schmerzen, Reflexminderungen, stärkere vegetative Störungen und Paresen vorkommen. Nach Absetzen der Medikamente

verschwinden die Krankheitserscheinungen in den meisten Fällen wieder. Als gefährlichste toxische Nebenwirkung des Thalidomids gilt aber die Embryopathie, die sich selbst nach kleinsten und vielleicht sogar einmaligen Thalidomid-Gaben in der Frühgravidität einstellen kann und die sich durch multiple Mißbildungen auszeichnet. Am 15. November 1961 warnte LENZ die Chemie Grünenthal GmbH. telefonisch, das thalidomidhaltige Schlaf- und Beruhigungsmittel könnte die Ursache der seit einigen Jahren in erschreckendem Ausmaß gestiegenen Zahl von Geburten mißgestalteter Kinder sein. Am 26. November 1961 zog die Herstellerfirma das Contergan aus dem Handel. Im Mai und Oktober 1961 hatte schon der australische Arzt McBRIDE (100) die englische Lizenzfirma informiert, er habe den Verdacht, daß Mißbildungen bei Kindern durch Thalidomid verursacht worden seien.

Für das Bestehen eines kausalen Zusammenhanges zwischen der Einnahme von Thalidomid durch die schwangeren Frauen und Mißbildungen der Neugeborenen sprechen folgende Feststellungen:

1. Die Kurven von Thalidomidverkauf und Mißbildungen verlaufen parallel, auch in anderen Ländern, in denen thalidomidartige Präparate verkauft wurden. Nach dem Zurückziehen des Mittels aus dem Handel setzte 8 - 9 Monate später schlagartig ein Rückgang der angeborenen Mißbildungen ein.
2. Retrospektive und später sogar prospektive Anamnesen ergaben, daß Mütter, die in der Frühschwangerschaft Thalidomid eingenommen hatten, später mißgebildete Kinder bekamen.
3. Die Thalidomidschäden stellen ein ganz bestimmtes Mißbildungsmuster dar, das von anderen Schäden zu unterscheiden ist und als Krankheitsbild sonst nicht beobachtet wird. Diese Auffassung vertreten u.a. LENZ (89), WEICKER (163) und WIEDEMANN (164).

Nur einige Fälle von Thalidomid-Embryopathie gleichen nach LENZ (89) genetisch bedingten Mißbildungen so weitgehend, daß man von einer Phänokopie sprechen kann.

Nach positiven Thalidomid Anamnesen hat LENZ (89) einen

Embryonalkalender für die teratogene Wirkung dieses Medikaments aufgestellt. Die kritische Phase, in der überhaupt irgendeine äußere Mißbildung durch Thalidomid verursacht werden kann, liegt danach zwischen dem 34. und 50. Tag post menstruationem (p.m.). Weder vor noch nach dieser sensiblen Periode soll das Thalidomid eine teratogene Wirkung ausüben.

Die Thalidomid-Embryopathie bei Kindern

Bei der kurzen Beschreibung des Mißbildungssyndroms sollen die Angaben von LENZ (89) und WEICKER (163) als Grundlage dienen. - Eine frühe Einnahme von Thalidomid führt zu mehr oder weniger starken Mißbildungen des äußeren Ohres, bzw. zum völligen Fehlen der Ohrmuschel, nicht selten in Verbindung mit schweren Schäden des Innenohres. Häufig damit kombiniert sind Schädigungen der Augenmuskelkerne sowie Facialislähmungen. Bei den Gliedmaßen sind meistens die oberen Extremitäten betroffen, soweit es die unteren betrifft, sind die oberen immer mitbeteiligt.
Thalidomideinnahmen zwischen dem 39. und 41. Tag p.m. führen zu schweren Formen der Gliedmaßenmißbildungen wie völligem Fehlen der Arme und Beine (Amelie) oder rudimentären an den Schultern ansetzenden Händen mit ein, zwei oder drei Fingern (Phokomelie). Radius und Ulna können unterentwickelt sein oder ganz fehlen. An den unteren Extremitäten ist meistens die Tibia betroffen neben einer proximalen Hypoplasie oder einer völligen Aplasie des Femur. Wie an der Hand der radiale, ist am Fuß meistens der tibiale Strahl geschädigt. Es gibt Daumen- und Großzehenaplasien und -hypoplasien, -verdoppelungen und -verdreifachungen und auch -triphalangien. Wie an der Hand kommen am Fuß Syndaktylien, Oligodaktylien und auch seltener Polydaktylien vor. Charakteristisch für eine Schädigung durch Thalidomid ist auch ein Mittelgesichtshämangiom, das von der Stirn über die Nasenspitze bis zur Oberlippe reichen kann. Die Mißbildungen der inneren Organe betreffen am häufigsten die Niere, den Magendarmtrakt und das Herz, wie WEICKER (163), CILILIANI u. TOLKS (20) und KREIPE (80) berichten. An inneren Mißbildungen sind viele Kinder kurz nach der Geburt gestorben.

Eine Abhängigkeit von der Dosis ist für die Entstehung der Mißbildungen nach LENZ (89), WEICKER u. Mitarb. (162) und NACHTSHEIM (109) nicht festzustellen. Selbst einmalige Gaben in der sensiblen Phase der Schwangerschaft können nach TOMS (154) zu schweren Mißbildungen führen.
Auch genetische und andersartige Belastungen der Mütter schließen LENZ (89), WEICKER u. Mitarb. (162) und NACHTSHEIM (109) aus.
Daß ein unmittelbarer Zusammenhang besteht zwischen der Häufung bestimmter Extremitätenmißbildungen beim Menschen und der Einnahme thalidomidhaltiger Medikamente in der Frühschwangerschaft, ist in der Medizin weitgehend anerkannt. Die Tatsache, daß es nicht in allen Fällen zu einer Schädigung der Frucht kam, wie z.B. BURLEY (17) und SMITHELLS (139) berichteten, erklärt PLIESS (113) mit einer Mißbildungsresistenz durch eine Genomstabilität und WEICKER u. Mitarb. (162) mit einer unterschiedlichen Sensibilität. ARBAB-ZADEH (4) ist der Ansicht, daß beim Zustandekommen der angeborenen Mißbildungen eine serologische Disposition als endogene Noxe neben dem Thalidomid mitbeteiligt ist. Einen monokausalen Zusammenhang zwischen Thalidomideinnahme und Mißbildungen, wie ihn LENZ (89), WEICKER u. Mitarb. (162) und WIEDEMANN (164) vermuten, bezweifeln mehrere Autoren, u.a. GOTTSCHEWSKI (52), SIEWERS (136), ARBAB-ZADEH (5), von MASSENBACH u. SEVERIN (98) und SCHEUCH (125), auf Grund statistischer Untersuchungen. Der Verbrauch der thalidomidhaltigen Präparate pro Kopf der Schwangeren der genannten Jahrgänge sei so groß gewesen, daß es weit mehr Mißbildungen hätte geben müssen.
Auch die These, daß es sich bei der Thalidomid-Embryopathie um ein eigenständiges Mißbildungssyndrom besonderen und neuen Typs handele, wie sie u.a. LENZ (89), WIEDEMANN (164) und WEICKER (163) vertreten, wird von verschiedenen Autoren bezweifelt, so von GOTTSCHEWSKI (52), von MASSENBACH u. SEVERIN (98), ARBAB-ZADEH (5) und PÜSCHEL (114).

Thalidomid im Tierversuch

Seitdem LENZ auf den Zusammenhang zwischen dem in den Jahren 1958 bis 1962 gehäuft aufgetretenen Mißbildungssyndrom

und der Einnahme von Thalidomid hingewiesen hatte, wurden bis jetzt zahlreiche Tierversuche unternommen, um die Wirkungsweise des Präparates zu erklären. Das ist bis heute noch nicht eindeutig gelungen. Die experimentellen Untersuchungen über die teratogene Wirkung des Thalidomids zeigen, ähnlich wie die anamnestischen Untersuchungen beim Menschen, unterschiedliche Ergebnisse. Wie beim Menschen ist die Wirkung des Teratogens vom Zeitpunkt der Applikation und vom Differenzierungsgrad des Keimes im Moment der einsetzenden Schädigung abhängig. Die Zeitspanne, in der ein Teratogen Mißbildungen der Frucht, bzw. der jeweiligen Anlagen hervorrufen kann, wird als kritische oder sensible Phase bezeichnet. Daneben sind auch die Dosierung, die Spezifität und das Verhalten des Teratogens im mütterlichen Stoffwechsel, seine Metabolisierung und sein Übertritt auf die Frucht für die Erzeugung von Mißbildungen von Wichtigkeit.

Wegen der Fülle der Thalidomid-Literatur erwähnt die folgende Übersicht nur Versuche von Laboratoriumssäugetieren, speziell an Kaninchen. Kurze Angaben über Thalidomidversuche an bebrüteten Hühnereiern, Fröschen, Fliegen, Seealgen, Zellkulturen, Bakterien, Tumorgeweben u.a. finden sich in den Arbeiten von SCHERBATH (124) und HELM (60).

Die Thalidomid-Applikation erfolgt bei den Versuchssäugetieren in den meisten Fällen wie beim Menschen per os, entweder mit der Schlundsonde oder in einem Futterbrei, beim Kaninchen auch in Gelatinekapseln. Andere Applikationsarten sind auf Grund der Unlöslichkeit von Thalidomid wenig geeignet. ARBAB-ZADEH (4) beobachtete beim Meerschweinchen, daß nach intraperitonealer Injektion das Thalidomid meist von Membranen umhüllt in der Bauchhöhle abgekapselt wurde, und BRENT (15) stellte nach i.p. Thalidomid-Applikation bei Ratten eine lokale Peritonitis fest, auf die er eine Beeinträchtigung der Embryonalentwicklung zurückführte.

Da sich das Thalidomid im Wasser sehr schnell absetzt, wird es meistens zu wäßrigen Suspensionen von Carboxymethylcellulose (CMC), Gummi arab. oder Traganth zugesetzt, aber auch zu Mais- oder Erdnußöl.

Die Mehrzahl der Untersucher tötete die Versuchstiere kurz vor der Geburt, um nach Besichtigung des Uterus einen genauen Überblick über die Resorptionen und die Entwicklung der Früchte zu erhalten, zumal die Nagetiere tote oder mißgebildete Junge nach der Geburt häufig an- oder auffressen.
In den meisten Fällen erfolgt eine Untersuchung des Skeletts der Jungen durch Röntgenstrahlen oder nach Aufhellung der Muskulatur in einprozentiger Kalilauge und Anfärbung der Knochen mit Alizarinrot durch makroskopische Inspektion.

Thalidomid-Versuche bei Affen

Mißbildungen, die mit den Beobachtungen beim Menschen als fast identisch bezeichnet werden können, sind bei Affen gelungen, auch hinsichtlich der Thalidomid-Dosierung, des Zeitpunktes der Applikation und der Schädigung und Höhe des Mißbildungsrisikos. Beim Menschen betrug die tägliche Thalidomid-Dosis ca. 1 - 3 mg/kg.
Die ersten Versuche, bei Rhesusaffen mit Thalidomid Mißbildungen zu erzeugen, schlugen fehl. LUCEY u. BEHRMANN (97) und DROBECK u. Mitarb. (27) hatten von Beginn der Graviditat an in hohen Dosen Thalidomid gegeben. Dagegen führten Thalidomidgaben vom 22. bis 32. Tag nach der Konzeption bei sechs trächtigen Weibchen von Macaca irus regelmäßig zu schweren Extremitätenmißbildungen oder disorganisierten Embryonen ("Teratomen"), wie die Versuche von DELAHUNT u. LASSEN (25) zeigten. Bei Pavianen konnten dann HENDRICKX u. Mitarb. (61) nach Thalidomid-Gaben von 5 mg/kg/d an verschiedenen Tagen zwischen dem 18. und 44. Tag nach der Konzeption schwere Mißbildungen erzeugen. Ein Pavianweibchen, das vom 18. bis 32. Trächtigkeitstag 5 mg/kg/d Thalidomid erhielt, hatte ein Junges, bei dem eine Amelie aller vier Gliedmaßen, eine Spina bifida cystica, eine Verkürzung des Schwanzes und leichte Ohrmißbildungen beobachtet wurden. Ein anderes Junges, dessen Pavianmutter vom 18. bis 30. Tag nach der Konzeption täglich 5 mg/kg Thalidomid bekommen hatte, wies eine Amelie der Vordergliedmaßen, eine Phokomelie der Hintergliedmaßen, eine beiderseitige Lippenspalte und eine Verkürzung des Unterkiefers auf.

Es war auch in der fetalen Entwicklung zurückgeblieben. WILSON u. GAVAN (167) haben dann versucht, die sensible Phase bei Macaca mulatta näher zu präzisieren. Tiere, die zwischen dem 25. und 30. Trächtigkeitstag Thalidomid erhielten, brachten Junge mit schweren Extremitätenmißbildungen zur Welt. Ein Affenweibchen hatte am 27. Tag 19 mg/kg Thalidomid bekommen. Ihr Junges zeigte leichtere Ohranomalien und eine Phokomelie aller vier Extremitäten, sowie einen verkürzten Schwanz. Die Zahl der Finger war reduziert, die der Zehen auf sechs vermehrt, darunter hatte die Großzehe drei Phalangen.
SCHMIDT (126) konnte nach der Versuchsanordnung von WILSON u. GAVAN (167) bei Rhesusaffen fast identische Ergebnisse erzielen. Danach scheint die sensible Phase für Thalidomidmißbildungen bei Affen ungefähr die gleiche zu sein wie beim Menschen (21. bis 36. Trächtigkeitstag).

Thalidomid-Versuche bei Mäusen

Bei Mäusen hat die Mehrzahl der Untersucher keine Mißbildungen durch Thalidomid erzeugen können. Sehr häufig wurde aber eine erhöhte Zahl von Resorptionen beobachtet. Die tägliche Dosierung (1 mg/kg bis 5000 mg/kg), der Zeitpunkt und die Dauer der Applikation des Präparates waren bei den einzelnen Versuchen sehr unterschiedlich.
KUNZ u. Mitarb. (81) hatten schon 1956 berichtet, daß sie eine Dosis letalis$_{50}$ für Mäuse nicht ermitteln konnten, sie hielten Thalidomid für "ungiftiger als Kochsalz".
Nach RIEMSCHNEIDER u. BROCKMEYER (116) war die Trächtigkeitsdauer normal, wenn die Mäuse während der gesamten Gravidität 600 mg/kg/d Thalidomid per os erhielten. Gegenüber den Kontrolltieren ging die Zahl der Neugeborenen aber stark zurück. 25 mit Thalidomid behandelte Mäuse brachten 71 Junge zur Welt, 25 Kontrolltiere dagegen 149 Junge. Mißbildungen wurden nicht beobachtet. Die Jungen der Thalidomid-Gruppe zeigten aber ein verzögertes Wachstum.
Über negative Ergebnisse hinsichtlich der Mißbildungen nach Thalidomid-Behandlung trächtiger Mäuse berichten u.a. auch: CAHEN u. Mitarb. (18), FRATTA u. Mitarb. (45), LECHAT u. Mitarb. (86), MAUSS u. STUMPE (104), SCHULZ u. SIERTS-ROTH (127), SELLER (134) und SZABO u. STEELMAN (150).

Bei einigen Thalidomid-Versuchen an Mäusen sind aber doch Mißbildungen beobachtet worden. So sahen BADTKE u. Mitarb. (6) nach hoher Thalidomiddosierung (100 bis 1000 mg/kg/d) bei zwei verschiedenen Mäusestämmen die gleichen Defekte, die auch bei den Kontrolltieren auftraten, aber in etwas größerer Zahl, wie z.B. Mißbildungen an der Wirbelsäule, Mikrophthalmien und Lippen-Kiefer-Gaumenspalten.
Unter 37 Mäusen, die vom Beginn der Trächtigkeit 100 bis 500 mg/kg/d Thalidomid erhalten hatten, fanden MURAD u. ALVARENGA (108) bei einer Maus zwei mißgebildete Feten. Ein Junges zeigte eine Amelie, das andere eine Phokomelie der Vordergliedmaßen.
Eine Klumpfußbildung erwähnten ROE u. Mitarb. (118), während sie ein gehäuftes Auftreten von Tumoren bei der Nachkommenschaft thalidomidbehandelter Mäuse nicht feststellen konnten.
Neben diesen sporadisch beobachteten Mißbildungen fand DIPAOLO (111) bei den 62 mit Thalidomid behandelten Muttertieren in sieben Würfen Junge mit zahlreichen Veränderungen, wie Skoliosis, Fehlen der rechten Tibia und Fibula, Hypoplasie der linken Unterarmknochen, Fehlen des ganzen Beckens und Deformationen des Brustkorbes u.a.
GIROUD u. Mitarb. (50) wie auch TUCHMANN-DUPLESSIS u. MERCIER-PAROT (155) stellten nach steigenden Thalidomidgaben (50 bis 500 mg/kg/d) auch eine steigende Zahl von Resorptionen und 5 - 11 % Mißbildungen fest, wie Hasenscharten, Gaumenspalten, vereinzelte Katarakte, verschiedene Schwanzdeformationen und Mißbildungen des Axialskeletts.

Thalidomid-Versuche bei Ratten

Wie bei der Maus, so verliefen auch bei der Ratte die sehr zahlreichen Versuche, mit Thalidomid Mißbildungen zu erzeugen, in den meisten Fällen negativ. Große Variationsbreiten wiesen die Applikationsdauer während der Trächtigkeit und die tägliche Dosierung (1 mg/kg bis 4000 mg/kg) auf. Zum Teil in Abhängigkeit von der Dosis stellten fast alle Autoren bei den Muttertieren nach Thalidomidgaben eine erhöhte Zahl von Resorptionen fest, u.a. BIGNAMI u. Mitarb. (12), BRENT (15), CAHEN u. Mitarb. (18),

CHRISTIE (19), DWORNIK u. MOORE (28), FELISATI (39), FRATTA u. Mitarb. (45), GIROUD u. Mitarb. (50), HEINE u. KIRCHMAIR (54), KING u. KENDRICK (75), KLEIN-OBBINK u. DALDERUP (76), McCOLL u. Mitarb. (101), RIEMSCHNEIDER u. BROCKMEYER (116), SCHERBARTH (124), SCHUMACHER u. Mitarb. (131), SELLER (134), SOMERS (141), STAEMMLER u. LAGLER (145) und STAPLES u. HOLTKAMP (147).

Nach BRENT (15) und STAEMMLER u. LAGLER (145) haben orale Gaben von Thalidomid an die Muttertiere während der Trächtigkeit keinen Einfluß auf das Geburtsgewicht und das Wachstum lebend geborener Jungratten.

RIEMSCHNEIDER u. BROCKMEYER (116) und SCHERBARTH (124) beobachteten dagegen eine retardierte Entwicklung der Jungen nach der Geburt.

Über vereinzelte Mißbildungen bei Ratten berichteten zuerst BIGNAMI u. Mitarb. (12). Sie bemerkten unter 539 Feten von thalidomidbehandelten Ratten zwei Junge mit Gliedmaßen- und Schwanzmißbildungen. KING u. KENDRICK (75) sahen 6,9 % grobe Mißbildungen, nach Aufhellung der Feten und Anfärbung des Skeletts erhöhte sich die Zahl auf 14,6 %; darunter waren Fehlhaltungen der Hinterbeine, Hämatome des Gaumens, akzessorische Schneidezähne, Schwanzmißbildungen und extrem kleine Feten. KLEIN-OBBINK u. DALDERUP (76) fanden bei ihren Thalidomidversuchen an trächtigen Ratten nur eine reduzierte Verknöcherung am fünften Ossifikationszentrum des Sternums bei den Feten. Bei hoher Thalidomiddosierung war dieses Zentrum bizarr geformt. DWORNIK u. MOORE (28) bestätigen diese Ergebnisse; dazu sahen sie bei den Rattenjungen abnormale Zehen, Klumpfüße und fehlende Schwanzwirbel und Rippen. Ossifikationsstörungen und Anomalien der Wirbelsäule, des Brustbeins und der Rippen beobachteten auch McCOLL u. Mitarb. (101). Diese Mißbildungen traten aber in Versuchen mit Vergleichssubstanzen, z.B. mit Acetylsalizylsäure ebenso auf, wie bei den Kontrolltieren, wenn auch in wesentlich geringerer Zahl.

Bemerkenswert sind auch die Versuchsergebnisse, die im Jahre 1968 SCHUMACHER u. Mitarb. (131) veröffentlichten. Diese Autoren gaben Ratten zwischen dem 9. und 14. Trächtigkeitstag 50 bis 100 mg/kg/d Thalidomid per os. Nach

dieser Behandlung beobachteten sie keinen teratogenen Effekt bei der Nachkommenschaft. Als sie aber Thalidomid in niedrigen Dosen (2,5, 5 und 10 mg/kg/d) während der gleichen Zeit der Gravidität intravenös injizierten, erhielten sie zahlreiche mißgebildete Junge (bis 15 %). Die Mißbildungen bezogen sich vorwiegend auf den Brustkorb, die Wirbelsäule, die Hüfte und den Schwanz.
Eine Korrelation zwischen der injizierten Thalidomiddosis und der Häufigkeit der Mißbildungen konnte bei diesen Experimenten festgestellt werden. Nach diesen Versuchen scheint für das Thalidomid eine Applikationsform gefunden zu sein, um auch bei der Ratte systematisch teratogene Effekte zu erzielen.

Thalidomid-Versuche bei Goldhamstern

Die Untersuchungen an Goldhamstern spiegeln im wesentlichen die Ergebnisse der Experimente an Ratte und Maus wider. Hinsichtlich der Erzeugung von Mißbildungen verliefen die Versuche von RIEMSCHNEIDER u. BROCKMEYER (116) negativ. Die Goldhamster hatten während der gesamten Gravidität 600 mg/kg/d Thalidomid erhalten. Auch FRATTA u. Mitarb. (45) sahen nach einer Thalidomid-Dosierung von 150 mg/kg/d vom 3. bis 12. Trächtigkeitstag keine teratogenen Effekte bei den Feten. BADTKE u. Mitarb. (6) beobachteten nach achtmonatiger Behandlung von Goldhamstern mit 100 und 1000 mg/kg/d Thalidomid in den nachfolgenden Würfen nur solche Mißbildungen, wie sie in annähernd gleicher Häufigkeit auch bei den Kontrollen auftraten, z.B. Wirbelkörperdefekte und chondrodysplastisch bedingte Verbiegungen der Röhrenknochen der vorderen Extremitäten. HOMBURGER u. Mitarb. (64) setzten 0,6 % Thalidomid (ca. 350 mg/kg/d) zum Futterbrei zu und stellten bei fünf der neun getesteten Hamster-Linien ein gehäuftes Vorkommen von Mißbildungen (ca.5 %) fest gegenüber den Kontrollen (0,6 %).

Thalidomid-Versuche bei Meerschweinchen

Beim Meerschweinchen stellte ARBAB-ZADEH (4) nach Dosierungen von 1 bis 5000 mg/kg/d Thalidomid, per os oder intraperitoneal gegeben, in drei aufeinander folgenden Generationen teilweise eine deutliche Verminderung der Wurfzahl

und ein entsprechend gehäuftes Vorkommen von pränatalem Absterben fest. Bei den toten Jungen bemerkte er ein deutliches Zwergwachstum und auffällig viele Gaumenspalten und Ohrmuscheldeformitäten. Als er Thalidomid mit dem Serum von Müttern, die ein sogenanntes Contergankind geboren hatten, mischte und intraperitoneal injizierte, traten bei den Meerschweinchenfeten innere und äußere Mißbildungen etwa in der beim Menschen beobachteten Weise auf. Eine Mischung von Thalidomid und Serum unbekannter Herkunft führte zu keinen derartigen Veränderungen. Der Autor glaubt, daß beim Zustandekommen der angeborenen Mißbildungen eventuell eine serologische Disposition als eine endogene Noxe neben dem Thalidomid mitbeteiligt ist.

Thalidomid-Versuche bei Kaninchen

Im Gegensatz zu den Versuchen an Ratten und Mäusen ist es zahlreichen Forschern gelungen, beim Kaninchen nach Thalidomidgaben in der sensiblen Phase der Trächtigkeit Mißbildungen bei der Nachkommenschaft zu erzeugen.
Unmittelbar nach dem Vortrag, in dem LENZ (88) am 18. November 1961 zum erstenmal in der Öffentlichkeit den Verdacht aussprach, das Contergan könnte die Ursache der gehäuft aufgetretenen Mißbildungen bei neugeborenen Kindern sein, begannen RIEMSCHNEIDER u. Mitarb. (115) im Dezember 1961 mit ihren Untersuchungen über die teratogene Wirkung des Thalidomids. Nach einer Reihe negativer Versuche konnten sie schon sehr bald bei trächtigen Kaninchen zahlreiche Mißbildungen bei der Nachkommenschaft erzeugen. Die Muttertiere erhielten vom 7. bis 14. Trächtigkeitstag 200 mg/kg/d und anschließend bis zum 18. Tag 150 mg/kg/d Thalidomid per os. Bei einem Viertel der 88 Versuchstiere befanden sich mißgebildete Junge unter den Neugeborenen. Wenn in den einzelnen Würfen Mißbildungen auftraten, waren ca.65 % der Jungen betroffen. Die auffallenden Mißbildungen der Nachkommen bestanden in einer Verkürzung der Vorderbeine und Defekten verschiedener Art an den Hinterbeinen.
Während des Drucks dieser Mitteilung wurde eine Notiz von SOMERS (141) bekannt, in welcher über die teratogene Wirkung von Thalidomid an Neuseeländer Kaninchen berichtet

wurde. Die vier Muttertiere hatten vom 8. bis 16. Trächtigkeitstag 150 mg/kg/d Thalidomid erhalten. Bei den mißgebildeten Jungen wurden im Röntgenbild Verkürzungen von Radius und Ulna sowie Anomalien von Femur, Tibia und Fibula beobachtet. Bei einer Wiederholung des Versuchs mit acht Kaninchen traten bei vier Tieren die gleichen Mißbildungen unter den Neugeborenen auf.
Einige orientierende Versuche über die Teratogenität des Thalidomids verliefen in der Folgezeit auch negativ. Das lag zum größten Teil an der zu geringen Zahl der Versuchstiere. So erwiesen sich nach RIEMSCHNEIDER u. BROCKMEYER (116) vier Kaninchen eines anderen Stammes als im ersten Versuch (115) im Hinblick auf eine teratogene Wirkung als unempfindlich, selbst bei hohen täglichen Thalidomidgaben von 300 bis 400 mg/kg.
Auch HEINE u. Mitarb. (55), HELM (59) und THISSEN (153) berichteten von überwiegend negativen Versuchsergebnissen, durch Thalidomidgaben beim trächtigen Kaninchen Mißbildungen zu erzeugen. HEINE u. Mitarb. (55) konnten auch mit hohen Dosen von Thalidomid bei Chinchilla-Kaninchen lediglich eine erhöhte Zahl von Resorptionen, aber keine speziellen Mißbildungen der Feten feststellen.
Mißgebildete Junge fand auch HELM (59) nicht, als er sieben Kaninchen vom 8. bis 16. Trächtigkeitstag zweimal täglich 50 mg/kg Thalidomid per os gab und am 24. Tag tötete. Drei Muttertiere sollten nach der gleichen Thalidomid-Behandlung die Jungen austragen. Bei einem der zwei Würfe starb von 7 Jungen ein Tier nach 8 Tagen, ein weiteres nach 14 Tagen infolge eines Hydrocephalus. Ein Junges einer unbehandelten Mutter starb 8 Tage nach der Geburt gleichfalls an Hydrocephalus. Der Autor führt das Sterben der Neugeborenen auf eine postnatale Infektion zurück. Eine Wiederholung des Experiments mit einer Tagesdosis von 10 mg/kg Thalidomid hatte keinen Einfluß auf die Trächtigkeit der fünf Versuchstiere.
Eine andere Versuchsanordnung wählte THISSEN (153). Er gab Versuchstiergruppen von zwei bis drei Tieren 8 Tage vor der Konzeption bis zur Beendigung der Trächtigkeit 10 mg/kg/d Thalidomid im Futterbrei. In der Gruppe mit zwei

Muttertieren, in denen auch der Rammler Thalidomid erhalten hatte, wurden 3 tote Neugeborene gefunden und es bestand der Verdacht, daß ein Muttertier 2 Junge aufgefressen hatte. Ein Neugeborenes, bei dem nur die Mutter Thalidomid bekam, hatte keinen Darm. Extremitätenmißbildungen fand der Autor nicht, wohl aber in einer unregelmäßigen, keineswegs signifikanten Streuung bestimmte Normvarianten, wie zervikothorakale oder thorakolumbale Übergangswirbel mit Halsrippen, bzw. einem rudimentären Rippenpaar. Bei einer Wiederholung des Versuches mit 4 Kaninchen, aber mit höherer Thalidomiddosierung waren von 15 Jungen 2 so stark angefressen, daß sie nicht ausgewertet werden konnten. Bei allen übrigen Neugeborenen fanden sich makroskopisch keine Besonderheiten.

SELLER (134) erwähnte zuerst Mißbildungen der inneren Organe bei Feten thalidomidbehandelter trächtiger Kaninchen. Die Autorin injizierte ihren Versuchstieren vom 1. bis 12. Tag der Gravidität täglich 50 mg/kg Thalidomid intraperitoneal. Die Jungen von Silbergrau-Kaninchen waren normal. Von den 15 Jungen der Weißen Neuseeländer Kaninchen waren 3 intrauterin abgestorben und 7 zeigten eine Abknickung der Vorderpfoten, wie sie SOMERS (141) beschrieben hatte. In allen Fällen waren Radius und Ulna vorhanden. Bei 4 Feten wurden aber Herzmißbildungen beobachtet, und zwar Hypoplasien des linken Vorhofes.

Auch GOTTSCHEWSKI (52) wählte die intraperitoreale Thalidomid-Applikation. Er verabreichte es Kaninchen einer Mischrasse in einer täglichen Dosis von 10 mg/kg zu verschiedenen Zeiten zwischen dem 15. und 16. Tag der Gravidität. In Parallelversuchen mit Cyclophosphamid, Stickstoff-Lost und Cyclophosphamid/Thalidomid gewann er die Feten am 11. bzw. 17. Trächtigkeitstag durch eine Kaiserschnitt-Operation. Nach einer einmaligen Cyclophosphamid-Injektion am 9. Tag der Trächtigkeit waren ca. drei Viertel der Feten geschädigt, gegenüber weniger als ein Viertel nach einer zeitlich vergleichbaren Thalidomidbehandlung. Nach Injektionen am 8., 9. und 10. Tag blieben ca. nur ein Drittel der Cyclophosphamid-Feten gegenüber zwei Drittel der Thalidomid-Feten leben, auch wurden doppelt so viele Cyclophosphamid-Feten resorbiert. Alle drei untersuchten Substanzen hatten

in Abhängigkeit vom Injektionszeitpunkt und von der Dosierung eine phasenspezifische, nicht aber eine organspezifische Wirkung. Wie alle anderen Mittel führte auch das Thalidomid in bestimmten Zeiten der Frühgravidität zu einem Absterben der Feten.
GIROUD u. Mitarb. (50) fanden unter den lebenden Feten 30 % mißgebildete, wenn sie trächtigen Kaninchen vom 6. bis 14. Tag nach der Paarung 125 bis 250 mg/kg/d Thalidomid mit dem Futter gaben. Die Mißbildungen bezogen sich auf das Zentralnervensystem, die Gliedmaßen und das Achsenskelett:Encephalocelen, Anencephalien, Klumpfüße und Mißbildungen an der Wirbelsäule und an den Extremitäten wurden von den Autoren beobachtet.

Die weiteren Thalidomidversuche sind in der Tabelle 1 angeordnet. Zu einzelnen Versuchsergebnissen folgen noch kurze Anmerkungen im folgenden Text, da nicht sämtliche Thalidomidexperimente der einzelnen Autoren aufgeführt werden konnten.
Als Tag der Applikation ist das Datum in der Originalarbeit angegeben. Bei der Applikationsweise per os wird die Thalidomidgabe mit der Sonde (S), in Kapseln (K) und im Futterbrei (F) unterschieden.
Die Angaben über die lebenden, toten und mißgebildeten Jungen beziehen sich immer auf die Gesamtzahl der Jungen, die resorbierten Früchte werden gesondert gezählt. Manche Forscher rechnen die Resorptionen zu den Mißbildungen. In diesen Fällen sind die Angaben in der Tabelle korrigiert. Bei den Mißbildungen ist nur die Art des beobachteten Mißbildungstyps angegeben, nicht die Häufigkeit ihres Vorkommens bei den einzelnen Untersuchungen.
Angaben über die Kontrollversuche sind in der Tabelle nicht aufgeführt. Über die Hälfte der Autoren hat bei ihren Kontrolltieren keine mißgebildeten Feten gefunden. Die übrigen Forscher berichteten nur über vereinzelt vorkommende Mißbildungen unter den Kontrollfeten. SAWIN u. Mitarb. (122) sahen allerdings bei Kontrolltieren zweier Kaninchenstämme bis zu 4 und 5 Prozent Mißbildungen. Die Veränderungen bezogen sich vorwiegend auf das Achsenskelett (Wirbelsäule, Rippen, Brustbein, Kopf), nie auf die Gliedmaßen.

In fast allen Thalidomid-Experimenten mit trächtigen Kaninchen waren die Wurfgröße und das Geburtsgewicht der einzelnen Jungen verringert.
Die Mehrzahl der Untersucher tötete die Versuchstiere kurz vor der Geburt. Bei der Besichtigung des Uterus wurde bei den Tieren, die Thalidomid erhalten hatten, eine erhöhte Zahl von Resorptionen festgestellt.

Die Mißbildungen in der Tabelle 1 sind unterteilt in Mißbildungen der Extremitäten (A), des Achsenskeletts und des Kopfes (B), des Nervensystems und der Augen (C), der Eingeweide (D) und der Haut (E) und in andere Anomalien, wie verschiedene Hernien (F).

A. Extremitätenmißbildungen werden beim Kaninchen am häufigsten beobachtet. Von allen mißgebildeten Feten wiesen bei DEKKER u. MEHRIZI (24) 100 % (56 Feten), bei PEARN u. VICKERS (112) 81 % (51 Feten) und bei SCHUMACHER u. Mitarb. (131) 64 % (56 Feten) Veränderungen an den Gliedmaßen auf. Zu den Extremitätenmißbildungen zählen die meisten Untersucher auch alle 1) Fehlstellungen der Gelenke, wie Flexion, Torsion, Luxation und Arthogryposis. 2) Verkürzungen und Verformungen der Glieder finden sich oft unter den Mißbildungen der Thalidomid-Feten. Die Defekte der Gliedmaßen können sich über eine Unterentwicklung bis zum völligen Fehlen der langen Röhrenknochen erstrecken. Die Knochen der Vordergliedmaßen, 2a) Radius, 2b) Ulna und 2c) Humerus (selten) sind immer häufiger betroffen als die Knochen der Hinterbeine: 2d) Tibia, 2e) Fibula, 2f) Femur. 2g) Beckenknochenveränderungen sind selten. 3) Mißbildungen der Füße werden am häufigsten beschrieben: dazu gehören 3a) die Klumpfußbildung, 3b) die Daumenhypoplasie und -aplasie, 3c) fehlende Knochen in den Zehengliedern, 3d) das Vorkommen von drei Phalangen in der ersten Zehe, 3e) fehlende Zehen, (Oligodaktylie), 3f) überzählige Zehen (Polydaktylie) und 3g) zusammengewachsene Zehen (Syndaktylie).

B. Zu den Mißbildungen des Achsenskeletts zählen 4) Anomalien der Wirbelsäule, z.B. Verwachsungen von Neuralbögen, 5) rudimentäre, fehlende, überzählige oder zusammengewachsene Rippen, 6) Ossifikationsstörungen am Sternum

Tabelle 1

Autor Jahr	Stamm	Appl.-Zeit	Appl.-Art	Dosis mg/kg/d	Muttert. insges. (trächtg.)	JUNGE insges. resorb.	JUNGE lebend (tot)	JUNGE m.Miß-bildg.	JUNGE Mißblg. in %	MISSBILDUNGEN Extremitäten	MISSBILDUNGEN Skelett o.Extr.	MISSBILDUNGEN ZNS u. Auge	MISSBILDUNGEN Eingeweide	MISSBILDUNGEN Haut u. Hernien
1. Spencer 1962	Himalaja	8.-14.	p.os/S.	24o	2 (2)	6	4 (2)	6	1oo	2				
2. Felisati 1962	W.Canadian	7.-15.	p.os/S.	5o	5 (3)	17	17	8	47	2,a,b,3b,e		11	17	2ob
3. Bough et al. 1963	W.Neuseeld. California	8.-13.	p.os/S.	5oo	7	28 (3o)	27 (1)	22	79	1,2a,b,3a,b,d	B	12	15b	
4. Staples & Holtkamp 1963	Dutch-Belted	8.-15.	p.os/S.	1oo	87			127		2a,c,3a,e,f	6, 7			
5. Felisati & Nodari 1963	W.Canadian	7.-15.	p.os/S.	15o	7 (7)	42 (15)	4o (2)	37	88	2	4,5,1o	11,13 14	15a,b 17,18abc	
6. Loustalot 1963	Mischrasse	6.-14.	p.os/F.	3o	9 (5)	41 (14)	41	4	1o	1,3a,c,e,f	7, 8	12		
	Mischrasse	6.-14.	p.os/F.	1oo	19 (9)	32 (4)	31 (1)	9	29					
	Mischrasse	6.-14.	p.os/F.	3oo	16 (9)	18 (21)	18	14	9o					
7. Larsen 1963	White Danish	1.-2o.	subkut.	1oo	14 (9)	32 (33)	3o (2)	21	66	A	7, 8	14d		2o,21ab 23a,b
8. Ingalls & al. 1964	TC-Hybride	8.-11.	pos/F.	12o-15o	3 (3)	7	7	7	1oo	A,2a,d,e,3f			15	
9. Lechat et al. 1964	Mischrasse	8.-12.	p.os/S.	25o	13 (13)	84 (5)	68 (16)	37	44	A,1		12,14b		2o
1o. Dekker & Mehrizi 1964	W.Neuseeld.	8.-16.	p.os/S	15o	3	17	17	7	41	1,2,3a	7, 8		15c	21
	W.Neuseeld.	8.-11.	p.os/S	15o	1o	59	59	56	95	2,a,e				
11. Loosli 1964	Schweizer Hasenkanin.	8.-16.	p.os/F.	3o	23 (6)	26	26	22	85	1,2,a,b,c, 2d,e,f,g,3e	4, 5, 6,7,9	14b,d	16	21a
	Schweizer Hasenkanin.	8.-16.	p.os/F	1oo	27 (5)	2o	2o	17	85					
	Schweizer Hasenkanin.	8.-16.	p.os/F	3oo	22 (4)	18	18	15	83					
12. Hay 1964	Mischrasse	8.-16.	p.os/K.	3oo-5oo	4 (4)	33 (8)	25 (8)	12	45	2d,e,3b,e	6, 7		18b	

Fortsetzung der Tabelle 1

Autor Jahr	Stamm	Appl.-Zeit	Appl.-Art	Dosis mg/kg/d	Muttert. insges. (trächtg.)	JUNGE insges. (resorb)	JUNGE lebend (tot)	JUNGE m.Mißbildg.	JUNGE Mißblg. in %	MISSBILDUNGEN Extremitäten	MISSBILDUNGEN Skelett o.Extr.	MISSBILDUNGEN ZNS u. Auge	MISSBILDUNGEN Eingeweide	MISSBILDUNGEN Haut u. Hernien
13. Drobeck et al.,1965	W.Neuseeld.	8.-16.	p.os/S.	15o	15	1oo (32)	88	59	67	1,2,2a,d,e, f,g, 3f,g	6, 7, 8, 1o	11,13, 14a	15b	23b
14. Fratta et al.,1965	W.Neuseeld.	4.-16.	p.os/K.	5o	5 (4)	22 (11)	19 (3)	13	6o	1	7			2o
	W.Neuseeld.	4.-16.	p.os/K.	15o	16 (13)	81 (19)	39 (17)	32	59	1,3a,f,g	7	11		23a
	W.Neuseeld.	4.-16.	p.os/K.	3oo	3 (2)	5 (1)	5	5	1oo	1,3f	7			
15. Sawin et al.,1965	W.Neuseeld.	6.-11.	p.os/K.	5oo	11 (8)	43 (12)	24 (19)	1o5	96	3a,b,c,e	5, 6, 7		16,17	22,23c
	W.Neuseeld.u. Mischrasse	6.-11.	p.os/K.	5oo	7 (5)	47 (1)	37 (1o)			2,2a,f,d, 3a,b,c,e	4, 5, 6, 7	12a,13	15e, 18b,19	21
	OS (a.Holland)	6.-11.	p.os/K.	5oo	12 (5)	19 (7)	16 (3)			2d,3a,b,f	4, 5, 6, 7	14a,c	16	
16. Roux et al.,1965	Mischrasse	6.-14.	p.os/S.	15o	16	8i (3o)	78 (3)	16 (24)	2o (31)	1,2,3b,f		12	15,16	
17. Larsen u. Brendahl,"66	White Danish	1.-2o.	subkut.	6o	8 (4)	13 (8)	9 (4)	11	85	2,3b,e	5, 6, 7,9a,		15b,19	23a
18. Wuest et al.,1966	W.Neuseeld.	4.-16.	p.os/K.	15o	3 (3)	12 (11)	1o (2)	6	5o	3b	7, 8, 9a		15a,17	23a
19. Fabro u. Smith 1966	Chinchilla	6.-15.	p.os/S.	15o	14	62 (46)	34	28	45	1,2,3a,e,g		14a	15,15c 17	2o
	W.Neuseeld.	6.-15.	p.os/S.	15o	12	64 (44)	44	2o	31	1,2,3a,e,g		14a	15,15c 17	
2o. Pearn u. Vickers,1966	W.Neuseeld.	7½-13½	p.os/S.	15o-3oo	39 (17)	121	121	63	52	1,2,2a, 3b,c,f	1o	11,14a,b	16,17, 18a,c,19	21,23b
21. Vickers 1967	Mischrasse	7½-13½	p.os/S.	15o	25 (23)	133		97	73	1,2a,b,d,e,f, g,3b,c,d,e,f	6, 7	11,14a	15,17, 18b,19	21,23b
22. McColl et al., 1967	Mischrasse	8.-16.	p.os/S.	3oo	6 (6)	46				1,2c,e,d,f	5, 6	12	16	22
23. Schumacher et al.,1968	Mischrasse	8.-12.	p.os/S.	25-3oo	46	37o		88	24	1,2a,b,c, d,e,f,g	4, 5, 6, 7	11,13, 14		21,23b

und am häufigsten 7) fehlende oder deformierte Schwanzwirbel. 8) Am Kopf fallen verschiedene Ossifikationsstörungen der Kopfknochen auf und am 9) Maul, 9a) Zahn- und 9b) Kieferanomalien wie Lippen-, Kiefer- Gaumenspalten. 10) Nasenknochendeformierungen werden kaum erwähnt.

C. Mißbildungen des Nervensystems werden verhältnismäßig oft beobachtet: 11) Hydrocephalus, 12) Encephalocele, Exencephalie, 12a) Anencephalie, (selten), 12b) Cranioschisis, 13) Spina bifida oder Meningocele. Unter den 14) Augenanomalien kommen 14a) Mikrophthalmien häufiger vor als 14b) Anophthalmien, 14c) Iriscolobome oder 14d) offene Augenlider.

D. Die Mißbildungen der Eingeweide werden oft nur als Nebenbefunde registriert, da nicht alle Autoren eine gründliche Untersuchung der inneren Organe durchführten. Von den 15) Anomalien des Urogenitalsystems werden die 15a) Hypoplasie und öfter noch die 15b) Aplasie einer Niere erwähnt; ganz selten sind 15c) Mißbildungen an den Geschlechtsorganen, z.B. Fehlen von Ovar, Tube und Uterus auf einer Körperseite. Unter den 16) Herzmißbildungen werden Klappendefekte und Anomalien des Aortenbogens beschrieben. Eine anormale Lappenbildung kommt hin und wieder bei der 17) Lunge und 18a) Leber vor. Auch 18b) Gallenblasenhyperplasien und 18c) -aplasien sind manchmal beobachtet worden. 19) Stenosen und Rectalatresien werden gelegentlich bei der Untersuchung des Magen-Darm-Traktes erwähnt.

E. Unter den Veränderungen der Haut sind 20) Hämangiome beschrieben worden. Meistens befinden sie sich am Vorderkopf, aber auch über den abgewinkelten Karpalgelenken. In der Umgebung der 21) Nase können 21a) die Nasenlöcher enggestellt und geschlossen sein oder 21b) ganz fehlen, 22) Veränderungen des äußeren Ohres wie kleine und eingekerbte Ohrmuscheln sind sehr selten.
Unter den sonstigen Anomalien sind 23a) Umbilikalhernien, 23b) Diaphragma-(Hiatus)Hernien und seltener 23b) Bauchwandhernien beobachtet worden.

Aus der Tabelle 1 ist ersichtlich, daß die Kaninchenstämme

der einzelnen Untersucher verschieden auf Thalidomidgaben reagieren. Es fällt auf, daß von den Dysmelien die schweren Formen wie Phokomelie und Amelie, die das Bild der Thalidomid-Embryopathie beim Menschen geprägt haben, fehlen.

Zu 4. STAPLES u. HOLTKAMP (147), die ihre Kaninchen künstlich besamten, stellen in weiteren Thalidomidversuchen eine Korrelation zwischen der täglichen Dosis und dem Auftreten von Mißbildungen fest. Zusätzliche Gaben von Riboflavin (B_2) zur Thalidomidapplikation hatten keinen Einfluß auf die Mißbildungsrate.

Zu 5. Hinsichtlich des Riboflavins (B_2) bestätigten FELISATI u. NODARI (40) die Befunde von STAPLES u. HOLTKAMP. 88 % der Mißbildungen entstanden nach Thalidomidgaben zwischen dem 7. und 9. Trächtigkeitstag, in der Periode vom 10. bis 12. Tag wurden nur noch 12 % Mißbildungen registriert.

Zu 7. LARSEN (82) injizierte drei Gruppen von 4 bis 6 Kaninchen das Thalidomid subkutan zwischen dem 1. und 17., 3. und 20. und 6. und 20. Tag nach der Paarung. Die drei Gruppen sind in der Tabelle zu einer zusammengefaßt.

Zu 8. INGALLS u. Mitarb. (68) gaben das Thalidomid 2, 3 und 4 Tage lang zwischen dem 4. bis 12. Trächtigkeitstag. Nach dem 10. Tag schien das Thalidomid keine teratogene Wirkung mehr zu besitzen.

Zu 9. N-Methylphthalimid verursachte nach LECHAT u. Mitarb. (86) im Gegensatz zum Thalidomid keine Mißbildungen.

Zu 10. DEKKER u. MEHRIZI (24) gaben das Thalidomid auch an einem Tag oder an zwei und drei Tagen hintereinander zwischen dem 8. und 11. Trächtigkeitstag. Sie fanden in allen Fällen eine große Anzahl von Mißbildungen.

Zu 12. HAY (54) testete die Thalidomidwirkung beim Kaninchen vor, während und nach der Implantationszeit in verschiedenen Perioden zwischen dem 1. und 16. Trächtigkeitstag. Nach Thalidomidgaben an die Muttertiere wiesen die Blastocysten am 5. Tag p.c. noch keine Veränderungen auf. Am 6. Tag war die Embryonalscheibe kleiner und an ihrer Außenlinie zum Trophoblasten

erschienen einige degenerierte Zellen. In Einzelfällen war die Außenlinie etwas verdickt. Ob die verzögerte Embryonalentwicklung zu diesem Zeitpunkt durch eine verminderte Zellteilung oder durch Entwicklung kleinerer als normaler Zellen bedingt war, konnte die Autorin nicht entscheiden. Wurde die Thalidomidbehandlung bis zum 10. oder 16. Trächtigkeitstag ausgedehnt, so war der Implantationsverlust nur noch gering, bis zur Geburt starben aber noch eine Anzahl von Feten ab und ungefähr 40 % der Feten hatten Mißbildungen.

Zu 15. Nach SAWIN u. Mitarb. (122) wiesen die drei genetisch verschiedenen Kaninchenstämme signifikante Unterschiede in Typus, relativer Zahl und Verteilung der Mißbildungen auf. Die Autoren beschrieben auch viele Mißbildungen der inneren Organe.

Zu 16. ROUX u. Mitarb. (120) unterschieden die äußerlich sichtbaren Mißbildungen (21 %) und die der inneren Organe (31 %). Sie berichteten ausführlicher über Herz- und Aortenbogenanomalien.

Zu 19. FABRO u. SMITH (34) untersuchten die teratogene Wirkung nach einmaligen Thalidomidgaben zwischen dem 5. und 15. Tag der Trächtigkeit. Danach scheint für die Weißen-Neuseeländer-Kaninchen die sensible Phase zwischen dem 6. und 10. Tag zu liegen.

Zu 22. In dieser Arbeit untersuchten McCOLL u. Mitarb. (102) die teratogene Wirkung des Thalidomids im Vergleich zu anderen Substanzen wie Acetylsalicylsäure, Tolbutamid, Phenobarbital, Gluthethimid, Methaqualone und Dimenhydrinat. Bei den Mißbildungen wurde nicht die absolute Zahl der betroffenen Feten angegeben, sondern nur der Prozentsatz der einzelnen teratogenen Veränderungen.

Zu 23. SCHUMACHER u. Mitarb. (131) haben in ihrer Untersuchung die teratogene Wirkung des Thalidomids bei Ratten und Kaninchen nach oraler und intravenöser Applikation verglichen. Das Thalidomid wurde in Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Propylenglycol gelöst. Schon einmalige intravenöse Injektionen von 10 mg/kg

Thalidomid am 7., 8., 9. oder 10. Tag der Trächtigkeit führten zu teratogenen Effekten. Tägliche intravenöse Thalidomidgaben von 2, 5 bis 10 mg/kg zwischen dem 8. und 12. Tag verursachten Mißbildungen, deren Zahl mit ansteigender Dosierung zunahm. Wenn das Thalidomid intravenös injiziert wurde, wirkte es 25 bis 30 mal stärker teratogen als bei einer Applikation per os. Die ersten Versuche, beim Kaninchen durch intravenöse Thalidomid-Injektionen Mißbildungen zu erzeugen, hatten FOX u. Mitarb. (43) unternommen. Ihre Experimente mit einer wäßrigen Thalidomid-CMC-Glucose-Lösung waren aber negativ verlaufen. SCHUMACHER u. Mitarb. (132) wiesen später nach, daß das Thalidomid in der Injektionslösung zu 70 bis 95 % hydrolysiert war.

In zwei ausführlichen Einzeluntersuchungen beschrieb VICKERS (157,158) die Entstehung der Gliedmaßen- und Herzmißbildungen nach Thalidomidbehandlung der Muttertiere. Im Vorkommen der Herz- und Aortenbogendefekte unterschieden sich die sechs getesteten Kaninchenstämme signifikant.

Untersuchungen über den Thalidomid-Stoffwechsel

Eine Reihe von Veröffentlichungen beschäftigte sich mit dem Schicksal des Thalidomids im Organismus. Für diese Stoffwechseluntersuchungen wurde das Thalidomid mit radioaktivem Kohlenstoff oder Wasserstoff markiert. Vom Magen-Darm-Kanal wird es schnell absorbiert, 15 Minuten nach oraler Gabe erscheint es im Blut, wie MacKENZIE u. McGRATH (103) bei der Ratte feststellten. Im Blut zerfällt es teilweise ohne Einwirkung von Enzymen durch Hydrolyse in verschiedene Derivate. Nach BECKMANN (11) dringt das Thalidomid oder seine Metaboliten gleichmäßig in alle Organsysteme ein. FAIGLE u. Mitarb. (38) fanden bei Ratten eine geringgradige Anreicherung in den Nieren und im Magen-Darm-Kanal, KORANSKY u. ULLBERG (78) bei trächtigen Mäusen in der Leber, in der Gallenblase und in den 16 Tage alten Feten, und FABRO u. Mitarb. (32) in der Leber und den Nieren beim Kaninchen.
Der biologische Abbau erfolgt nach BECKMANN (11) beim Menschen und bei der Ratte in nahezu gleicher Weise, nur wird bei Menschen die Radioaktivität langsamer ausgeschieden als

bei Ratten.

Untersuchungen von FABRO u. Mitarb. (35) am Kaninchen zeigten, daß 58 Stunden nach einer oralen Gabe von 150 mg/kg (^{14}C) Thalidomid 90 % ausgeschieden waren, 70 % durch die Nieren und 20 % im Kot. Im Urin befanden sich nur 2 % unverändertes Thalidomid, der Rest bestand aus Metaboliten, im Kot dagegen war nur ein geringer Anteil des Thalidomids hydrolisiert.

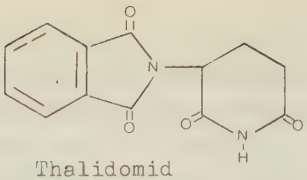
KEBERLE u. Mitarb. (72) berichteten, daß 40 % der Radioaktivität des Blutes vom unveränderten Thalidomid und 60 % von seinen Derivaten stammten, wenn Kaninchen 4 Stunden vor der Untersuchung 100 mg/kg (^{14}C) Thalidomid per os erhielten.

Unterschiede im Thalidomid-Stoffwechsel zwischen Ratten und Kaninchen fanden SCHUMACHER u. Mitarb. (132). Der Plasmaspiegel des Thalidomids stieg beim Kaninchen viel schneller an als bei der Ratte. Der Gipfel war beim Kaninchen schon 1 Stunde nach p.o. oder i.v. Applikation von 10 mg/kg (^{3}H)-Thalidomid erreicht, bei der Ratte dagegen erst nach 3 Stunden. Deutlicher unterschieden sich noch die Kurven der Metaboliten im Plasma. Beim Kaninchen stieg die Kurve steil an - die Werte waren dreimal so hoch wie bei der Ratte - und fiel dann bald wieder ab, während die Kurve bei der Ratte fast gleichbleibend flach verlief. Die unterschiedliche Reaktionsweise der beiden Tierspezies zeigen auf die Stoffwechselleistungen der Leberzellen. Leberzellenhomogenate von Kaninchen metabolisierten Thalidomid schneller als Rattenleberhomogenate.

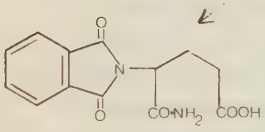
BECKMANN (11) fand im Harn mit Thalidomid behandelter Ratten 7 Hydrolyseprodukte, WILLIAMS (165) im Kaninchenharn sogar 15; drei davon konnte er nicht genau identifizieren, es waren wahrscheinlich Derivate der 3- und 4-Hydroxyphthalsäure. Die übrigen 12 entstehen nach SCHUMACHER u. Mitarb. (128) auch bei der spontanen Hydrolyse des Thalidomids im Phosphatpuffer pH 7,4 nach 24 Stunden und bei + 37°C.

Ein Überblick über diese Abbauprodukte wird im Schema 1 gegeben.

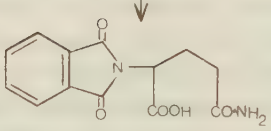
Schema 1



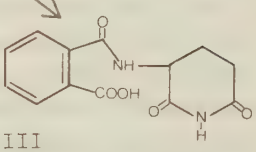
Thalidomid



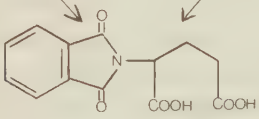
I
4-Phthalimido-glutaminsäure



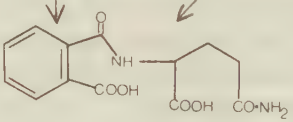
II
2-Phthalimido-glutaminsäure



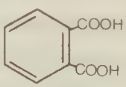
III
-(o-Carboxybenz-amido)-glutarimid



IV
2-Phthalimido-glutarsäure

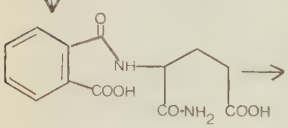


VI
2-(o-Carboxybenz-amido)-glutaminsäure

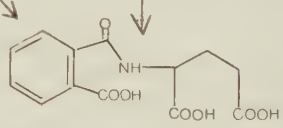


VIII
Phthal-säure

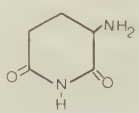
+



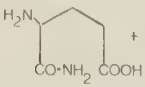
V
4-(o-Carboxybenz-amido)-glutaminsäure



VII
2-(o-Carboxybenz-amido)-glutarsäure

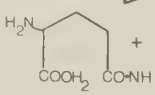


IX
-Amino-glutarimid



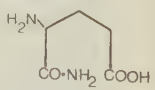
+ VIII

X
Isoglutamin

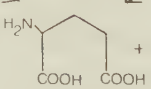


+ VIII

XI
Glutamin



X
Isoglutamin



+ VIII

XII
Glutaminsäure

Neben dem Schicksal des Thalidomids im mütterlichen Organismus interessierte vor allen Dingen, ob und wann das Thalidomid den Keimling erreichte.
RIEMSCHNEIDER u. Mitarb. (115) wiesen Thalidomid bzw. seine Metaboliten im 15 Tage alten Kaninchenfetus nach, FABRO u. Mitarb. (32) im 10 Tage alten Embryo und KEBERLE u. Mitarb. (72) in der 6 Tage alten Blastocyste. In der Kaninchenblastocyste war die Thalidomidkonzentration ungefähr halb so hoch wie im mütterlichen Blut.
GOTTSCHEWSKI u. ZIMMERMANN (53) berichteten, daß schon von der Bildung des ersten Keimblasenlumens an chemische Substanzen, wie Cyclophosphamid und Thalidomid, in die Fruchtblasen eindringen und den Keim schädigen können.

Fehlende teratogene Wirkungen der Thalidomid-Metaboliten und verwandter Verbindungen

Wie im einzelnen die teratogene Wirkung des Thalidomids zustande kommt, ist bis heute noch unklar. Immer wieder werden mögliche teratogene Effekte der Thalidomid-Metaboliten diskutiert. Alle 12 im Schema 1 erwähnten Hydrolyseprodukte sind daraufhin synthetisiert und am trächtigen Kaninchen geprüft worden. Das Resultat dieser Tests war in allen Fällen negativ. Die einzelnen Metaboliten wurden von verschiedenen Forschern untersucht, so prüften:
RIEMSCHNEIDER u. Mitarb. (115) I
SOMERS (142) I
HAY (54) II und VII an Kaninchenblastocysten
HEINE (57) I - III
KEBERLE u. Mitarb. (72) I - VII
FRITZ (47) I - VII und XII
FABRO u. Mitarb. (36) I - XII
Die Untersuchungen von FABRO u. Mitarb. (37) zeigten, daß die beiden optisch aktiven Isomere des Thalidomids allein die gleichen teratogenen Effekte beim trächtigen Kaninchen hervorriefen wie die allgemein übliche, optisch inaktive Form des (±) Thalidomids.
Die getrennten Strukturelemente des Thalidomidmoleküls, Phthalimid, Phthalsäure und α-Aminoglutarimid sind nicht teratogen, auch nicht, wenn sie verschiedenartig substituiert werden, wie WILLIAMS (166) berichtete. Abwandlungen

des Thalidomidmoleküls selbst zu analogen Verbindungen bleiben ebenfalls ohne teratogene Wirkung, wie WUEST u. Mitarb. (170) und STOCKINGER u. KOCH (148) feststellten. Lediglich bei einem Methylester des N-Phthaloylglutamins erwähnen WUEST u. Mitarb. (171), daß es Mißbildungen der inneren Organe erzeugt.
TUCHMANN-DUPLESSIS u. MERCIER-PAROT (155) prüften das Schlafmittel Doriden (Gluthethimid, α-Phenyl-α-aethylglutarimid) und LECHAT u. Mitarb. (86) N-Methylphthalimid; beide Substanzen zeigten keine teratogenen Effekte beim Kaninchen.

Theorien über die teratogene Wirkung des Thalidomids

Bei dem Versuch, die teratogene Wirkung des Thalidomids zu erklären, wurde die Vermutung geäußert, daß das Medikament ein Vitaminantagonist sein könnte. ROBERTSON (117) hatte nach längerer Thalidomidverabreichung bei etwa 25 % von 200 Patienten Defekte an Zungen-, Backen- und Rachenschleimhaut gesehen, gelegentlich sogar Schleimhautblutungen. Nach oralen Gaben von B-Vitaminen gingen diese Symptome zurück und nach prophylaktischer Behandlung blieben sie vollkommen aus.

Erscheinungen eines Mangels an Vitaminen der B-Gruppe beobachtete auch KEMPER (73) bei heranwachsenden Hühnern, die täglich 250 mg/kg Thalidomid erhielten. Innerhalb von 4 Wochen wurden diese Tiere anämisch und ihr Wachstum und ihre sexuelle Entwicklung blieben zurück. Zugaben von Vitamin B_6 und Folsäure zum Futter unterdrückten diese Erscheinungen. Auch die Symptome der Thalidomid-Polyneuritis konnten auf einen Antagonismus zu B-Vitaminen hindeuten (vgl. GIBBELS (49).

Die Versuche, einen Vitamin-B-Antagonismus des Thalidomids bei den kleinen Laboratoriumssäugetieren zu beweisen, schlugen fehl.
Zunächst versuchten SCHERBARTH (124) an Ratten und FRATTA u. Mitarb. (45) an Ratten und Mäusen durch eine Vitamin-Mangel-Diät die teratogene Wirkung des Thalidomids zu potenzieren. Diese Untersuchungen zeigten aber ein negatives Ergebnis. Dann versuchten einige Forscher, durch Vitaminzugaben die teratogenen Effekte des Thalidomids beim Kaninchen herabzusetzen. Auch diese Experimente schlugen fehl.

STAPLES u. HOLTKAMP (146) und FELISATI u. NODARI (40) hatten trächtigen Kaninchen zusätzlich zum Thalidomid Riboflavin, FELISATI (41) auch Folsäure, Nicotinamid und L-Glutaminhydrochlorid gegeben. FAIGLE u. Mitarb. (38) hatten vermutet, daß die Glutaminsäurederivate der Thalidomidmetaboliten im intermediären Stoffwechsel Glutaminsäureantagonisten sein könnten.

Eine gewisse immunosuppresive Wirkung schrieb HELLMANN (58) dem Thalidomid zu. Bei seinen Experimenten war die Überlebensdauer von Hauthomotransplantaten bei Mäusen, sofern diese zuvor Thalidomid erhalten hatten, verlängert. Es fehlte die Vermehrung der Immunzellen in den regionären Lymphknoten als Zeichen der Abwehrreaktion. In Verbindung mit diesen Versuchsergebnissen hat HELLMANN (58) nun versucht, eine Hypothese für die Thalidomidwirkung aufzustellen. Diese besagt, daß bei Feten mit Anomalien ein Spontanabort im ersten Drittel der Gravidität verhindert wird. Beim Menschen werden viele Mißbildungen als Spontanabort nicht entdeckt. Die Schätzungen über die Häufigkeit des Frühaborts schwanken zwischen 10 und 20 % aller Graviditäten, die Angaben über die Häufigkeit von Mißbildungen beim Spontanabort zwischen 20 und 60 %. Nach HELLMANN (58) ist der Fetus immunologisch ein Homotransplantat auf die Mutter und die spontanen Frühaborte weisen eine Ähnlichkeit mit der Abstoßung von Homotransplantaten auf. Durch die immunitätsaufhebende Wirkung des Thalidomids könnten mißgebildete Feten, die sonst im Frühstadium abgestoßen worden wären, bis zur normalen Geburt erhalten werden.

Als einen immunisierungshemmenden Effekt des Thalidomids interpretierte HELLMANN auch die guten Erfolge, die mit diesem Medikament bei der Behandlung der Lepra-Reaktion des Menschen gemacht wurden und über die SHESKIN (135) berichtete. Hellmanns Befunde bei Mäusen konnten beim Kaninchen nicht bestätigt werden. BORE u. SCOTHORN (13) stellten fest, daß die Überlebensdauer von Hauthomotransplantaten durch Thalidomid beim Kaninchen nicht verlängert wurde. Auch die These, daß der Embryo in der Mutter ein als Antigen wirkender Fremdkörper aufgefaßt werden müßte, blieb nicht unwidersprochen. Hinweise, warum die immunologische Abwehrreaktion

durch die Mutter unterbleibt, gab ZIMMERMANN (172). Danach werden zu Beginn der Nidation die mütterlichen Plasmaproteine von den Trophoblastzellen aufgenommen; hierdurch sind aber diese Zellen nicht mehr als Antigen für die Mutter wirksam.
Sichtbare Chromosomenveränderungen werden durch Thalidomid nicht hervorgerufen, das berichteten SOUKUP u. Mitarb. (143) nach Untersuchung von Zellen thalidomidgeschädigter Kaninchenfeten.
Ausgehend von der Tatsache, daß die Thalidomid-Applikation beim Menschen in der sensiblen Phase der Frühgravidität nicht immer zur Entstehung von Mißbildungen bei den Neugeborenen führte, zogen einige Forscher bei ihren Tierexperimenten eine zusätzlich wirksame zweite Noxe in Betracht. So beobachtete ARBAB-ZADEH (4) nur Mißbildungen bei Meerschweinchen, wenn diese das Thalidomid zusammen mit dem Serum von Müttern, die ein sogenanntes "Contergan"-Kind geboren hatten, bekamen. Eine Mischung von Thalidomid und Serum anderer Herkunft führte zu keinen Veränderungen bei den Meerschweinchenfeten. Der Autor ist der Ansicht, daß beim Zustandekommen der angeborenen Mißbildungen eventuell eine serologische Disposition als eine endogene Noxe neben dem Thalidomid mitbeteiligt ist.
HEINE u. Mitarb. (55) halten eine Leberinsuffizienz in der Schwangerschaft als zusätzlichen Faktor für die Entstehung von Mißbildungen für denkbar. Sie prüften an trächtigen Kaninchen nach zunächst erfolglosen Versuchen mit unspezifischer Hyperthermie und Prednisolon als zusätzlich schädigenden Faktoren schließlich systematisch den Einfluß einer passageren Leberschädigung auf thalidomidbehandelte trächtige Muttertiere. Die Leberschädigung schien den Autoren als potenzierender Faktor von Arzneimittelnebenwirkungen um so mehr von Bedeutung, als die Leber an vielen Detoxikationsvorgängen im Organismus mitbeteiligt ist. Sie gaben den Versuchskaninchen am 6. Tag der Trächtigkeit 50 bis 60 mg/kg Tetrachlorkohlenstoff per os durch die Schlundsonde und vom 7. bis 12. Tag dann 150 mg/kg/d Thalidomid in einem traganthhaltigem Lösungsmittelgemisch. In diesen Versuchen führte die Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff auf der einen und die Applikation von Thalidomid auf der anderen

Seite unabhängig voneinander nicht zu einer faßbaren teratogenen Wirkung. Erst die Kombination beider Noxen schaffte nach Ansicht der Autoren die Bedingungen für die Entstehung der fetalen Mißbildungen. Bei den mißgebildeten Feten traten in großer Zahl Radiusstrahldefekte, Encephalocelen mit Hämangiomen im Stirnbereich, vollständige Exencephalien, hydrocephale Schädelkonfigurationen und Spaltbildungen der Lippen, des Kiefers und des Gaumens auf. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von HEINE u. Mitarb. (55) betonen STOCKINGER u. KOCH (148), daß sie bei der gleichen Versuchsanordnung keinen wesentlichen Unterschied zwischen den mit Tetrachlorkohlenstoff vorbehandelten und den unbehandelten Tieren feststellen konnten. Nach einer Thalidomid-Applikation von 150 mg/kg/d zwischen dem 7. und 12. Trächtigkeitstag erreichte die Mißbildungs- und Resorptionsrate in beiden Versuchstiergruppen nahezu 80 %.
Nach HELM (59) besaßen Medikament-Kombinationen von Thalidomid mit Hormonen, Analgetika oder einem Antiemetikum kaum fruchtschädigende Wirkungen bei trächtigen Ratten. Wurde bei thalidomidbehandelten Ratten aber durch Alloxan ein latenter Diabetes erzeugt, war der Prozentsatz der abgestorbenen Feten deutlich erhöht. Mißbildungen traten nicht auf. Die Vorbehandlung der Ratten mit Alloxan führte zu keinen nennenswerten Fruchtschäden.

Diabetes und Schwangerschaft

In der Humanmedizin wird die Zuckerkrankheit, deren Entstehungsursachen noch weitgehend unbekannt sind, klinisch unterteilt in manifesten Diabetes, latenten Diabetes und Prädiabetes. Der manifeste Diabetes ist durch Glukosurie und einen erhöhten Blutzuckerspiegel charakterisiert. Diesem Stadium geht der latente Diabetes voraus, der am pathologischen Ausfall von Belastungstests zu erkennen ist. Die Kurven der Glukosetoleranztests zeigen zum Teil nur dann einen pathologischen Verlauf, wenn die hormonale Kohlenhydratregulation zusätzlich belastet wird, zum Beispiel durch eine Schwangerschaft oder experimentell durch Verabreichung von Nebennierensteroiden. Der Prädiabetes ist jener Zustand, der vor der sichtbaren Störung des Kohlenhydratstoffwechsels

steht. Mit völliger Sicherheit kann die Diagnose erst retrospektiv gestellt werden. Man vermutet den Prädiabetes bei den Menschen, die infolge starker erblicher Belastungen zu irgendeinem Zeitpunkt in ihrem Leben zuckerkrank werden müssen. Im Zustand des Prädiabetes und des latenten Diabetes können schon erhöhte Insulinblutspiegelwerte vorkommen und bei graviden Frauen Fehl- oder Frühgeburten, aber auch übergewichtige oder mißgebildete Kinder. Diese Schwangerschaftskomplikationen gelten als ein begründeter Verdacht auf eine latente Zuckerkrankheit der Mütter.
Über die Auswirkungen der diabetischen Stoffwechsellage der Mutter auf das werdende Kind haben MAYER u. CAMARA (99) eine zusammenfassende Darstellung gebracht. Danach war in der Vor-Insulin-Ära die Schwangerschaft einer diabetischen Frau ein seltenes Ereignis. Nur 2 bis 5 % der Diabetikerinnen wurden gravid; außerdem betrug die perinatale Sterblichkeit dieser Frauen 25 bis 60 %. Heute ist sie bei guter Einstellung auf 0,2 bis 0,5 % abgesunken. Im Gegensatz dazu ist der Rückgang der Kindersterblichkeit, die bis vor kurzem noch zwischen 25 und 60 % schwankte, weniger deutlich. Die Folgen der Einwirkungen der mütterlichen Dyshormose auf das Kind sind Aborte, Totgeburten, zu große Kinder, normal große Kinder mit ungeklärter Lebensinsuffizienz und lebende mißgebildete Kinder. Unter den Mißbildungen beobachtet man Schädeldefekte, Anencephalie, Hydrocephalus, Herzfehler, multiple Skelettdefekte, Nierenmißbildungen u.a.m. Bei entsprechendem Schweregrad können diese Mißbildungen bereits während der Schwangerschaft oder in der Neugeborenenperiode zum Absterben des Kindes führen. Die Mißbildungsrate wird heute mit einer Frequenz um 7 % angegeben.

Alloxan-Diabetes im Tierversuch

In zahlreichen Experimenten hat man versucht, die Embryopathia diabetica des Menschen bei den Laboratoriumstieren zu reproduzieren. Zur Erzeugung eines künstlichen Diabetes verwendete man in den meisten Fällen das Alloxan. Bei den Laboratoriumssäugetieren lassen sich durch große Alloxandosen die Insulin-produzierenden B-Zellen der Langerhans'schen Inseln der Bauchspeicheldrüse zerstören, so daß sich eine im Prinzip irreversible diabetische Stoffwechsellage entwickelt.

Der Mechanismus der selektiven Zerstörung der B-Zellen ist noch unklar. Eine kurze Zusammenfassung der Hypothesen zur Alloxanwirkung geben DIRSCHEL (26) und FRERICHS u. CREUTZFELDT (46). Aus der Affinität des Alloxans zu den Sulfhydrilgruppen folgert man, daß das Alloxan direkt an wichtigen für die Insulinproduktion unbedingt erforderlichen Fermentsystemen, zu deren Funktion S-H-Gruppen nötig sind, eingreift und auf diesem Wege die Nekrose der B-Zellen verursacht. Andere Forscher sind der Ansicht, daß das Alloxan über das Inselzink seine diabetogene Wirkung entfaltet.

Untersuchungen von LEE u. STETTEN (87) mit radioaktiv-markiertem Alloxan zeigten, daß es schnell über die Nieren ausgeschieden wird. Eine geringe Anreicherung der Radioaktivität konnte in den eiweißfreien Fraktionen von Blut, Leber, Niere und Lunge festgestellt werden. LEECH u. BAILEY (88) berichteten, daß Alloxan wenige Minuten nach der intravenösen Injektion aus der Blutbahn verschwunden ist.
Daß das Alloxan schon in den ersten Minuten nach der Injektion seine diabetogene Wirkung entfaltet, bestätigten auch elektronenmikroskopische Untersuchungen von WELLMANN u. Mitarb. (160) an Pankreasinseln beim Kaninchen. Schon 5 bis 10 Minuten nach großen Alloxandosen (50 bis 200 mg/kg) beobachteten sie durchsichtige Bezirke in Teilen des B-Zellencytoplasmas. Solche "hohlen" Stellen befanden sich in der Nähe der Cytoplasmamembran oder einer Kapillare. Diesen Veränderungen des Hyaloplasmas folgten dann das Anschwellen der Mitochondrien, die Auflösung der Interzellularmembran, die Kern-Pyknose, das Verschwinden der B-Zellengranula und schließlich die Auflösung der Zelle.
Das Verhalten des Blutzuckerspiegels beim Kaninchen unmittelbar nach der Alloxaninjektion beschrieben u.a. JACOBS (69), LISEWSKI u. MOHNIKE (92) und HOWELL u. TAILOR (66).
Im allgemeinen wird eine dreiphasige Blutzuckerkurve beobachtet: Nach der Alloxaninjektion folgt zunächst ein Anstieg der Blutzuckerkurve. Diese initiale Hyperglykämie wird einerseits mit einer Stresswirkung erklärt, andererseits soll die Leber unter dem unmittelbaren Einfluß des Alloxans vermehrt Glukose abgeben. In der nachfolgenden hypoglykämischen Phase wird das Insulin aus den nekrotisch veränderten

B-Zellen freigesetzt. In dieser Phase, die bis zu 20 Stunden andauern kann, sterben manche Tiere im hypoglykämischen Schock. Die hyperglykämische dritte Phase wird als Insulinmangeldiabetes infolge der Schädigung der B-Zellen durch das Alloxan gedeutet.

Über die Veränderungen der Blut- und Harnzusammensetzung beim chronischen Alloxandiabetes berichtete KÖNIG (77). Die Autorin verglich die Werte der Blut- und Harnbestandteile von 118 alloxandiabetischen Kaninchen mit denen von 154 stoffwechselgesunden. Die deutlichste Veränderung bestand in der Erhöhung des Blutzuckerspiegels bei den kranken Tieren. Die beobachteten Unterschiede zwischen gesunden un alloxandiabetischen Tieren in Bezug auf das weiße Blutbild, auf die Rektaltemperatur, den Blutzucker, das Blutaceton, den Blutphosphorspiegel und die Stickstoffausscheidung im Urin zeigten nach KÖNIG (77) eine Verschiebung des hormonellen Gleichgewichts zugunsten der Nebennierenhormone an.

Alloxan-Diabetes und Trächtigkeit

Die Auswirkungen des Alloxandiabetes auf die Trächtigkeit sind sehr oft bei Ratten und Mäusen untersucht worden. Im Rahmen dieser Arbeit interessieren besonders die Versuche, in denen das Alloxan vor der Trächtigkeit gegeben wurde. MILLER (107) untersuchte als erster die Auswirkungen des Alloxandiabetes auf die Trächtigkeit von Versuchstieren. Bei seinen Experimenten an Ratten waren die Trächtigkeitsdauer und das Geburtsgewicht der Feten gegenüber den Kontrolltieren nicht verändert. Ein Teil der Muttertiere hatte aber während des Versuchs Insulin-Injektionen erhalten.

Einen manifesten Alloxan-Diabetes vor der Trächtigkeit erzeugten auch andere Forscher wie DAVIS u. Mitarb. (23), SINDAN u. LONGWELL (137), LINDAN u. MORGANS (91), BARTELHEIMER u. KLOOS (9), LAWRENCE u. CONTOPOULOS (84), LOVE u. Mitarb. (96), KIM u. Mitarb. (74) und ALTHOFF u. Mitarb. (2) bei Ratten, und KOSKENOJA (79), ENDO (29) und ENDO u. INGALLS (30) bei Mäusen.
Im allgemeinen wurde festgestellt, daß ein Teil der Muttertiere während des Versuchs starb. Andere Tiere zeigten eine verminderte Fertilität; es war schwierig, bei ihnen eine

Gravidität zu erzeugen. DAVIS u. Mitarb. (23), SINDAN u. LONGWELL (137), LEVI u. WEINBERG (90), LAWRENCE u. CONTOPOULOS (84) und ALTHOFF u. Mitarb. (2) fanden, daß der Sexual-Zyklus der alloxandiabetischen Tiere unregelmäßig verlängert wurde. Der gestörte Zyklus konnte durch Insulin-Injektionen normalisiert werden.

Bei den trächtigen Tieren wurde ein Teil der Feten resorbiert oder totgeboren. Ein Teil der lebenden Jungen starb bald nach der Geburt. Über die Trächtigkeitsdauer beim Alloxandiabetes und das Geburtsgewicht der Jungen liegen unterschiedliche Ergebnisse vor.

BARTELHEIMER u. KLOOS (9) hatten bei einigen Ratten während der ersten Trächtigkeit einen Alloxan-Diabetes erzeugt. Als diese Tiere ein zweites Mal zur Geburt kamen, beobachteten die Autoren eine Verlängerung der Trächtigkeit. Das Geburtsgewicht der einzelnen Jungen war erhöht. Über die Hälfte wurde totgeboren. Diese Jungen wiesen alle bis auf eine Ausnahme einen erheblichen Hydrops auf. Sie hatten auch zahlreiche Ödeme an den Extremitäten.

Eine verlängerte Gravidität und ein erhöhtes Geburtsgewicht der einzelnen Jungen fanden auch KOSKENOJA (79) bei Mäusen und KIM u. Mitarb. (74) bei Ratten. Nach KOSKENOJA (79) war die Trächtigkeit nur verlängert, wenn in den einzelnen Würfen tote Feten vorkamen. Nach Angaben der übrigen Autoren waren beim Alloxan-Diabetes die Trächtigkeitsdauer normal und das Geburtsgewicht der Jungen verringert.

Der Erforschung von Mißbildungen wandte man sich erst in jüngerer Zeit intensiver zu. KOSKENOJA (79) fand bei alloxandiabetischen trächtigen Mäusen unter 143 Jungen 6 mit Augenanomalien; darunter waren Linsentrübungen, Dystrophien der Netzhaut und Iriscolobome. ENDO (29) hat die Muttertiere kurz vor der Geburt getötet, um eine genauere Kontrolle über die Entwicklung der Feten zu erhalten. In seinem ersten Versuch waren 7,8 % der Feten mißgebildet gegenüber 0,21 % bei den Kontrolltieren. Die häufigsten Mißbildungen waren Agnathie, Cranioschisis, Craniorachischisis und Gaumenspalte u.a. Bei einem anderen Mäusestamm fanden ENDO u. INGALLS (30) unter 401 Feten 13 mißgebildete (3,2 %). Diesmal kamen achtmal Gaumenspalten vor und je einmal Cranioschisis,

Abdominalhernie und Gaumenspalte, Abdominalhernie und zusammengewachsene Rippen, eine Spina bifida und eine Halswirbelanomalie. Bei dieser Untersuchung fanden die Autoren gleichzeitig Chromosomenveränderungen in den Zellen von normalen und mißgebildeten Feten diabetischer Muttertiere. Die Chromosomen in den Zellen der Kontrollfeten waren unverändert.

Wenn der Alloxan-Diabetes bei den Versuchstieren erst während der ersten Hälfte der Trächtigkeit erzeugt wurde, waren die embryotoxischen und teratogenen Auswirkungen schwerwiegender. Das zeigten u.a. die Untersuchungen von BARTELHEIMER u. KLOOS (9), SOLOMON (140), ANGERVALL (3), KIM u. Mitarb. (74), KOSKENOJA (79), WATANABE u. INGALLS (159), TAKANO u. Mitarb. (151), HORII u. Mitarb. (65) und TAKANO u. NISHIMURA (152).

Beim Kaninchen sind die Beziehungen zwischen Alloxandiabetes und Trächtigkeit von MILLER (107), BARASHNEV (8), FUJIMOTO u. Mitarb. (48) und OKAMOTO (110) untersucht worden.

MILLER (107) erzeugte bei 9 weißen Neuseeländer Kaninchen vor der Gravidität einen permanenten Alloxan-Diabetes. 7 Kaninchen erhielten Insulin-Injektionen. Insgesamt 17 Trächtigkeiten wurden verfolgt. Es zeigte sich, daß ein Teil der Feten intrauterin abstarb und dann resorbiert oder tot geboren wurde. 34 von 75 Feten waren tot. Einige von den lebenden Jungen zeigten Symptome der Unreife.

Diese embryotoxischen Wirkungen des Alloxan-Diabetes konnte BARASHNEV (8) bestätigen. Von 61 Feten der 9 trächtigen Muttertiere starben 32 (52,4 %) im Uterus ab, nur 29 (47,6 %) überlebten. Als das Alloxan am 2. bzw. 9. Tag der Trächtigkeit injiziert wurde, fand der Autor unter den Feten auch einige mit Mißbildungen (2,8 bzw. 0,9 %). Diese teratogenen Veränderungen bezogen sich in erster Linie auf das Gehirn: Fehlen der Hemisphären, Fehlen des Sulcus intermedianus, Hypoplasie des Kleinhirns und Hydrocephalus. Dazu kamen an äußeren Mißbildungen Cyclopie, Anophthalmie und Cebocephalie u.a.

Auch FUJIMOTO u. Mitarb. (48) erzeugten bei ihren 30 Versuchskaninchen den Alloxan-Diabetes vor der Trächtigkeit. Von 93 Feten waren 10 mißgebildet. 66 Keimlinge wurden resorbiert oder mazeriert. Unter den Mißbildungen wurden wieder

vorwiegend Gehirnanomalien festgestellt: Hydrocephalus, Exencephalie, Ventrikeldefekte. Je einmal wurde eine Skoliose und eine Mikrophthalmie beobachtet. Ein Fetus war in seiner ganzen Länge mit dem Amnion verwachsen, dadurch wurde die Gliedmaßenentwicklung gestört; an den Füßen waren einzelne Zehen zusammengewachsen.

Äußerlich sichtbare Mißbildungen fand OKAMOTO (110) unter den Jungen seiner zuckerkranken Versuchstiere nicht. Er hatte bei Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen über einen Monat vor der Paarung einen künstlichen Diabetes erzeugt. Als er die Nachkommenschaft über verschiedene Generationen verfolgte, bemerkte er, daß ein Teil der Tiere in der F_5-Generation spontan zuckerkrank wurde. War bei Ratten nur das Vatertier zuckerkrank gemacht worden, entstand der spontane Diabetes erst in der F_7-Generation. Bevor ein offener Diabetes auftrat, wurde in den vorhergehenden Generationen eine fortlaufende Reduzierung der B-Zellen in den Langerhans'schen Inseln beobachtet. Beim Kaninchen entstand ein spontaner Diabetes, wenn die Zahl der B-Zellen in den Langerhans'schen Inseln von normalerweise 31,4 auf 13,3 zurückgegangen war. Der Autor vermutet, daß dieses Phänomen durch eine Reaktion des Diabetes auf die Ei- und Samenzellen der Elterntiere hervorgerufen wird.

Dem Frühstadium des Diabetes mellitus widmete man erst vor kurzer Zeit mehr Beachtung. Aus diesem Grunde ist die Zahl der Tierversuche gering. Auch die Nomenklatur ist noch uneinheitlich. Der Arbeitskreis um LAZAROW prägte für den Zustand, der dem latenten Diabetes mellitus des Menschen entsprechen könnte, die Bezeichnung Subdiabetes. HELM (59) und LOVE u. Mitarb. (96) sprechen noch von Prädiabetes. Auch einige Fälle vom vorübergehenden (transient) Alloxan-Diabetes muß man zum latenten Diabetes zählen.

LOVE u. Mitarb. (96) verglichen die Trächtigkeit von 48 alloxandiabetischen und 49 latentdiabetischen Ratten. Die letzteren hatten normale Nüchternblutzuckerwerte, aber ihre Glucosetoleranz war bei der einfachen oralen Glukosebelastung vermindert. 26 diabetische und 36 latent-diabetische Muttertiere wurden trächtig. Ein Unterschied im Geburtsgewicht und in der Zahl der Feten von latent-diabeti-

schen und normalen Ratten wurde nicht festgestellt. Auch die Trächtigkeitsdauer war unverändert.
LAZAROW u. Mitarb. (85) erzeugten den "Subdiabetes" bei 9 Ratten durch intravenöse Alloxaninjektionen (25 bis 30 mg/kg) vor der Trächtigkeit und bei 3 Ratten am 12. Tag der Gravidität. In der Trächtigkeitsdauer und in der Wurfzahl bestand kein Unterschied zu normalen Tieren. Das Geburtsgewicht der einzelnen Neugeborenen war aber in der latent-diabetischen Gruppe signifikant erhöht; übergewichtige Feten erscheinen hier dreimal so häufig wie in der Kontrollgruppe. Auch die Anzahl der totgeborenen Feten war bei den latent-diabetischen Muttertieren größer.
Eine Erhöhung des Geburtsgewichts um 6 bis 8 % haben auch FOGLIA u. Mitarb. (42) bei latent-diabetischen Ratten festgestellt. Bei den Muttertieren war die latente Zuckerkrankheit durch eine 95%ige Pankreatektomie erzeugt worden.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methode

In dieser Arbeit wird untersucht, welchen Einfluß eine latent diabetische Stoffwechselstörung auf den Trächtigkeitserfolg und auf die Höhe der Mißbildungsrate bei latent zuckerkranken Kaninchen hat, die an bestimmten Tagen während der Trächtigkeit mit hohen Thalidomid-Dosen behandelt wurden. Gleichzeitig wurden in getrennten Versuchen die Auswirkungen des latenten Diabetes auf die Trächtigkeit der Kaninchen ermittelt, die teratogenen und embryotoxischen Effekte des Thalidomids bei dem verwendeten Versuchstierstamm bestimmt und die Trächtigkeit und die fetale Entwicklung bei den Kontrolltieren verfolgt.
Die latente Stoffwechselstörung wurde zwei Wochen vor der Paarung durch eine subdiabetogene Alloxan-Injektion erzeugt. Die Thalidomid-Applikation erfolgte vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag mit der Schlundsonde.
Bei einem Teil der Kaninchen wurde am 29. Trächtigkeitstag eine Kaiserschnittoperation durchgeführt, der Rest der Muttertiere wurde zu diesem Zeitpunkt nach einer Hysterektomie getötet. Bei allen Kaninchen wurden 4 Tage vor der Paarung

die Veränderungen des Blutzuckerspiegels nach einer oralen Traubenzuckerbelastung getestet, bei den operierten Tieren ebenso nach dem Kaiserschnitt. Vierzehn Tage nach der Operation wurde das Verhalten des Blutzuckerspiegels nach normalerweise nicht diabetogenen Cortison-Injektionen weiter überprüft. Die Untersuchung der Feten erfolgte am 29. Trächtigkeitstag.

Für alle Untersuchungen wurden Weiße Neuseeländer Kaninchen verwendet. Das Gewicht der weiblichen Versuchstiere betrug 3,5 - 5,2 kg. Die Kaninchen wurden in Einzelkäfigen in einem Tageslichtstall, der in der kalten Jahreszeit geheizt wurde, gehalten. Die Einstreu bestand aus Stroh. Wasser und pelletriertes Standard-Futter (Firma Zittrig, Berlin) erhielten die Kaninchen ad libitum. Zur Paarung wurde das weibliche Tier einen Tag in den Käfig des männlichen Tieres gesetzt. Dieser Tag zählte als Tag 1 der Trächtigkeit. Die männlichen Tiere wurden nicht behandelt.

Die Erzeugung des latenten Diabetes

Der latente Diabetes wurde bei den weiblichen Tieren nach einer Methode erzeugt, die WELLMANN u. Mitarb. (160) angegeben haben. Untersuchungen dieser Forschergruppe haben gezeigt, daß sich beim Kaninchen nach kleinen Alloxan-Dosen (12,5 oder 25 mg/kg i.v.) keine Hyperglykämie entwickelt, und die B-Zellen in den Langerhans'schen Inseln des Pankreas nicht völlig zerstört werden wie nach großen Alloxan-Injektionen (50 bis 200 mg/kg). Im Elektronenmikroskop ließen sich in den B-Zellen Veränderungen am endoplasmatischen Retikulum und am Golgi-Apparat, sowie morphologisch atypische B-Zell-Granula beobachten. WELLMANN u. Mitarb. (160) nennen diese latente Stoffwechselstörung beim Kaninchen Subdiabetes. Die Autoren (161) vermuten, daß dieser Zustand über viele Monate, vielleicht Jahre hinweg andauern kann. Injizierte man den latent diabetischen Kaninchen zwei Wochen nach der subdiabetogenen Alloxan-Behandlung täglich 1 mg/kg Cortison i.m., eine Dosis, die beim normalen Tier keine Erhöhung des Blutzuckerspiegels zur Folge hatte, so stellte sich eine deutliche Hyperglykämie ein.

WELLMANN u. Mitarb. (160) sind der Ansicht, daß kleine Dosen von Alloxan den sekretorischen Apparat der B-Zellen so aus-

reichend verändern, daß normalerweise nicht diabetogene Dosen von Cortison den latenten Diabetes in den Zustand des offenen Diabetes überführen, der bei weiterer Behandlung manifest werden kann.

Die Blutzuckerbestimmung

Die Blutzuckerbestimmungen wurden nach der enzymatischen Methode der "wahren Glukose" (ohne Restreduktion) mit der Biochemica-"Boehringer"-Test-Combination nach den Vorschriften von HUGGET U. NIXON (67) durchgeführt.

Im Prinzip katalysiert dabei das Enzym Glukoseoxydase (GOD) die Oxydation von ß-D (+) Glukose zum Glukonolacton, das weiter mit Wasser zu Glukonsäure reagiert.

1) Glukose $+H_2O + O_2 \xrightarrow{GOD}$ Glukonsäure $+ H_2O_2$

Das dabei entstehende Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2) wird in gekoppelter "Indikatorreaktion" weiter umgesetzt. H_2O_2 oxydiert unter enzymatischer Katalyse durch Peroxydase den Wasserstoffdonator DH_2 (z.B. o-Dianisidin), der dabei in den rotbraunen Farbstoff D übergeht.

2) $H_2O_2 + DH_2 \xrightarrow{POD} 2\ H_2O + D$

Die Gesamtgleichung heißt dann:

Glukose $+ O_2 + DH_2 \xrightarrow[POD]{GOD}$ Glukonsäure $+ H_2O + D$

Die Menge des braunen Farbstoffes ist ein Maß für die umgesetzte Glukose-Menge, da die Reaktionen quantitativ ablaufen.

Zur Enteiweißung wird 0,1 ml Blut zu 1 ml 0,33 n Perchlorsäure zugegeben. Beide Teile werden 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. 0,2 ml vom Überstand werden zu 5 ml einer Glukosereagenzlösung gegeben. Die frisch hergestellte Glukosereagenzlösung enthält 100 Teile (250 γ/ml Glukoseoxydase und 4,0 γ/ml Peroxydase in einem 0,12 m Phosphatpuffer p H 7,0) sowie einen Teil o-Dianisidin (5 mg/ml Aceton) als Wasserstoffdonator.

Nach 35 Minuten Inkubationszeit werden noch 5 ml 25%ige Schwefelsäure zugesetzt und die entstandene stabile rote Farbe dieser Lösung bei einer Wellenlänge zwischen 510 und 550 nm in einem Kolorimeter nach LANGE gemessen. Wie 0,2 ml der Probe werden auch 0,2 ml destilliertes Wasser (als Leerwert) und 0,2 ml Standard-Glukoselösung

(91 µg Glukose/ml) behandelt.
Der Glukose-Standard enthält 18,2 µg Glukose pro Reaktionsansatz, was 1 mg/ml Blut entspricht. Die Glukosewerte für die einzelnen Proben erhält man durch die Formel: (Extinktion der Probe dividiert durch Extinktion des Glukosestandards) x 100 = mg % Glukose im Blut.

Der orale Standard-Glukose-Toleranz-Test (GTT)

Zur Erkennung der latent diabetischen Stoffwechsellage wurde bei den Kaninchen der einfache orale Standard-Glukose-Toleranz-Test durchgeführt. Der Test begann morgens zwischen 8 und 9 Uhr nach vierundzwanzigstündiger Nahrungskarenz. Die Blutentnahme erfolgte aus der medialen Arterie des Kaninchenohres. Durch einen Scherenschlag wurde die Haut über einem Stück der Arterie entfernt und die Arterie selbst an dieser Stelle mit einem Hämostilett (Asid) angestochen. Es ist günstig, wenn die Wunde stark blutet, so daß während der ganzen Untersuchung das Blutgefäß nur einmal angestochen werden muß. Zwischen den einzelnen Blutentnahmen wurde die Wunde mit einer Wäscheklammer verschlossen. - Durch wiederholtes Anstechen der Blutgefäße werden die Kaninchen nur erschreckt. Stress-Situationen wie Aufregung und Angst können durch Ausschüttung von Adrenalin zu Erhöhung des Blutzuckerspiegels führen. Deshalb wirkt es sich für die Genauigkeit der Blutzuckerbestimmung günstig aus, wenn die Kaninchen an den Aufenthalt im Labor schon gewöhnt sind, und wenn sie sich während der Zeit der einzelnen Blutentnahmen an ruhigen Stellen frei hinlegen können. -
Nach der Blutprobenentnahme für den Nüchtern-Blutzuckerwert erhielten die Kaninchen 2g/kg Glukose in einer 50%ig. wäßrigen Lösung per os mit der Schlundsonde. Danach wurde 3 Stunden lang im Abstand von 30 Minuten der Blutzucker bestimmt.
Bei den oralen Blutzuckerbelastungstests in der Humanmedizin ist die Grenze zwischen normaler und pathologischer Glukose-Toleranz nicht genau festgelegt. Sie ist abhängig von der Art der Blutentnahme (arteriell/venös) und von der Bestimmungsmethode. Blutzuckerbestimmungsmethoden, die die Restreduktion miterfassen (z.B. nach Hagedorn/Jensen), können zu um ein Drittel höheren Werten führen, als sie bei Untersuchungen nach einer enzymatischen Methode gefunden werden.

Auch für Kaninchen sind in der Literatur keine Grenzwerte zwischen normaler und pathologischer Glukosetoleranz angegeben. Da sich bei dem in diesen Versuchen verwendeten Kaninchenstamm die Höhe des Blutzuckerspiegels und das Verhalten des Blutzuckers nach oraler Glukosebelastung nicht wesentlich von denen des Menschen unterschieden, wurden die Glukosebelastungskurven der Kaninchen nach den Kriterien ausgewertet, die SACHSSE u. YAZFANDAR (121) nach enzymatischer Blutzuckerbestimmung und kapillärer Blutentnahme für den Menschen angegeben haben. Werte über 155 mg% nach einer Stunde, 135 mg% nach zwei Stunden oder 112 mg% nach drei Stunden wurden als deutlicher Hinweis auf einen latenten Diabetes angesehen. Alle Werte darunter wurden als normal eingestuft.

Die Kaiserschnitt-Operation (Ventromedianschnitt)

Die Sectio caesarea wurde in einer Halothan-Sauerstoff-Narkose in einem halboffenen System durchgeführt. Aus einer Sauerstoffflasche wurde der Sauerstoff durch einen Schlauch über einen Zweiwegehahn durch ein Gefäß mit Halothan (Hoechst) in eine einfache Narkosemaske geleitet. Durch eine Schaltung im Zweiwegehahn konnte dem Tier auch nach Bedarf nur Sauerstoff allein zugeführt werden. Vor der Narkose wurden die Kaninchen durch eine intramuskuläre Injektion von 5 mg des Neuroleptikums Decentan (Merck) leicht sediert. Die Haare am Unterbauch wurden mit einer Schere und einem Rasierapparat entfernt. Hierbei war darauf zu achten, daß keine Zitzen angeschnitten wurden. Nach dem Einleiten der Halothan-Sauerstoff-Narkose wurden die Kaninchen in Rückenlage auf einen Operationstisch (Firma Hauptner, Berlin) befestigt. Das Operationsfeld wurde mit 70%ig. Äthanol desinfiziert. Dann wurde in der Medianlinie ein Schnitt von 5 bis 7 cm Länge angelegt. Die Durchtrennung der äußeren Haut, der Fascien und des Peritonäums in der Linea alba erfolgte fast völlig unblutig. Die Wundöffnung wurde mit einem Schlitztuch abgedeckt und dieses an den Wundrändern befestigt. Nach Hervorziehen und Vorlagern der Gebärmutterhörner wurde jedes Uterushorn längs einmal angeschnitten (Schnittlänge 3 bis 4 cm) und alle Feten einer Seite mit ihren Eihäuten und Plazenten aus dieser Öffnung vorsichtig herausgedrückt.

Durch die Ablösung der Plazenta kann es zu Blutungen in die Uterushöhle hinein kommen. Um einen Blutaustritt in die Bauchhöhle zu verhindern, wurden deshalb die Gebärmutterwunden mit Catgut (oo) vernäht. Im allgemeinen kontrahiert sich der Uterus sofort. Peritonäum und Fascien wurden zusammen mit einer Catgut (o)-Naht und die äußere Haut mit Perlon-Knopf-Nähten verschlossen. Die äußere Wunde wurde mit Nebacetin-Puder (BYK-Gulden) bestreut und mit einem Pflaster bedeckt. Während der Operation und drei bis fünf Tage danach wurden die Kaninchen prophylaktisch gegen Infektionen mit dem Antibiotikum Veticillin S (Lederle) versorgt. Veticillin S enthält Procain-Penicillin-G und Dihydrostreptomycinsulfat in wäßriger Suspension.
Nach der Operation wurde den Kaninchen für fünf Tage ein Kragen aus Pappe umgelegt. Durch diese Maßnahme wurde verhindert, daß die Tiere die Wunde beleckten. Nach 10 Tagen wurden die Fäden gezogen. Die Wundheilung erfolgte per primam. Vierzehn Tage nach der Operation hatten fast alle Tiere ihr Ausgangsgewicht vor der Trächtigkeit wieder erreicht.

Die Methode zur Untersuchung der fetalen Kaninchen-Knochen

Bei den 28 Tage alten Kaninchenfeten wurde die Aufhellung der Muskulatur und die Anfärbung der Knochen nach der Methode von STAPLES u. SCHNELL (147) durchgeführt.
Die Feten wurden enthäutet, eviscériert und für einen halben Tag in 70%ig. Äthanol gelegt. Danach wurden sie für zwei Tage in eine 1%ig. Kalilauge, zu der der Farbstoff Alizarinrot S in einer Konzentration von 6 mg/l zugesetzt wurde, gelegt. Die Lösung wurde öfter gerührt. Nach zwei Tagen wurden die Feten mit Wasser gut abgespült und für einen Tag in eine Lösung aus zwei Volumenteilen 70%ig. Äthanol, zwei Teilen Glyzerin und einen Teil Benzylalkohol gelegt. Vor der Inspektion wurden die aufgehellten Feten in einer Lösung aus gleichen Volumenteilen 70%ig. Äthanol und Glyzerin kurz hin und her geschwenkt. Aufbewahrt wurden die mißgebildeten Feten in Glyzerin, dem ein wenig Thymol zugesetzt wurde, um ein Bakterienwachstum zu verhindern.

Statistische Methoden:

Bei den Blutzuckerwerten wurden der mittlere Fehler des Mittelwertes nach der Formel

$$F\,m = \sqrt{\frac{\sum (f^2)}{n\,(n-1)}}$$

und bei den Gewichtsangaben der Feten die Standardabweichung vom Mittelwert nach der Formel

$$SAm = \sqrt{\frac{\sum (f^2)}{(n-1)}}$$ berechnet.

f = Abweichung der Meßergebnisse vom arithmetischen Mittelwert

$\sum (f^2)$ = Summe der Fehlerquadrate

n = Anzahl der Messungen

II. Eigene Versuche und Ergebnisse

Zur Untersuchung über den Einfluß des Thalidomids auf die Entwicklung der Feten latent diabetischer Kaninchen wurden die 65 weiblichen Versuchstiere in vier Gruppen eingeteilt:

Kontroll-Gruppe	- 8 Kaninchen
Alloxan-Gruppe	- 13 Kaninchen
Thalidomid-Gruppe	- 20 Kaninchen
Alloxan-Thalidomid-Gruppe	- 24 Kaninchen

Bei den Tieren der Alloxan-Gruppe wurde durch eine subdiabetogene Dosis von Alloxan ein latenter Diabetes erzeugt. In dieser Gruppe wurden die Auswirkungen der latenten Stoffwechselstörung der Muttertiere auf die Entwicklung der Feten untersucht.

In der Thalidomid-Gruppe wurde der embryotoxische und teratogene Effekt dieses Präparates getestet. Die Kaninchen erhielten vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag 150 mg/kg/d Thalidomid in einer Suspension von 5 mg/kg/d Carboxymethylcellulose und 10 ml Wasser. Die orale Applikation erfolgte mit einer PVC-Magensonde (Firma B. Braun, Melsungen). Die wäßrige Carboxymethylcellulose-Suspension verhinderte, daß sich das Thalidomid (F.271°C) im Wasser schnell absetzte und die Ausgangsöffnungen der Injektionsspritze oder der Magensonde

verstopfte.
In der Alloxan-Thalidomid-Gruppe wurde der Thalidomid-Einfluß auf die Entwicklung der Feten latent diabetischer Kaninchen untersucht. Die Muttertiere wurden latent-diabetisch gemacht, wie die Tiere der Alloxan-Gruppe, und sie wurden mit Thalidomid behandelt wie die Kaninchen der Thalidomid-Gruppe.
Die Kaninchen der Kontroll- und der Alloxan-Gruppe erhielten vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag 5 mg/kg/d Carboxymethylcellulose (CMC) in 10 ml Wasser suspendiert per os mit der Schlundsonde. Durch die CMC-Applikation sollte ein möglicher Einfluß dieser Substanz auf das Untersuchungsergebnis ermittelt werden.
Bei allen Kaninchen wurde am 17. Trächtigkeitstag der Erfolg der Gravidität durch Palpation kontrolliert.
Die Feten wurden am 29. Trächtigkeitstag untersucht; zu diesem Zweck wurden sie entweder durch eine Kaiserschnittoperation entwickelt oder nach Hysterektomie der getöteten Muttertiere aus dem Uterus herausgeholt.

Erzeugung des latenten Diabetes und Untersuchungen des Blutzuckerspiegels

Vierzehn Tage vor der Paarung wurde bei den weiblichen Kaninchen der Alloxan- und der Alloxan-Thalidomid-Gruppe durch eine subdiabetogene Dosis von Alloxan ein latenter Diabetes erzeugt. 35 mg/kg Alloxan-Monohydrat (Schuchardt, München) wurden langsam in eine Ohrrandvene injiziert. Die Alloxan-Stammlösung (5 x 35 mg Alloxan in 20 ml physiologischer Kochsalzlösung) wurde unmittelbar vor der Injektion hergestellt. Die Alloxandosis von 35 mg/kg Körpergewicht war höher als die, die WELLMANN u. Mitarb. (160) zur Erzeugung eines latenten Diabetes (12,5 oder 25 mg/kg Alloxan i.v.) angegeben haben. Durch die höhere Dosierung sollte mit Sicherheit eine latente Stoffwechselstörung beim Kaninchen hervorgerufen werden. Eigene Vorversuche hatten gezeigt, daß auch hohe Alloxan-Dosierungen von 50 mg/kg Körpergewicht nicht immer ausreichten, um beim Kaninchen einen manifesten Diabetes zu erzeugen.
Durch die Alloxan-Injektion zwei Wochen vor der Trächtigkeit sollte ein direkter Einfluß dieser Substanz auf die

Tabelle 2

Glukose-Toleranz-Tests vier Tage vor der Trächtigkeit und vierzehn Tage nach der Kaiserschnittoperation
Blutzuckerwerte in mg%

Kontroll-Gruppe(n=7)

Zeit in Minuten	o	3o	6o	9o	12o	15o	18o
GTT 4 Tage v.d. Trächtigkeit	7o,7 ±3,8	134 ±8,9	137 ±1o,3	114,6 ±1o,3	98,3 ±9,2	89,4 ±7,4	83,9 ±6,3
GTT 14 Tage n.d.Kaiserschnitt	67 ±3,8	13o ±8,6	137 ±1o,1	11o,5 ±9,4	9o,5 ±6,1	8o,3 ±5,8	72,9 ±5,3

Thalidomid-Gruppe(=7)

GTT 4 Tage v.d. Trächtigkeit	74,6 ±3,7	133,4 ±7,4	14o,1 ±1o,1	125 ±7,6	1o3,2 ±7,o	9o,3 ±6,8	85,3 ±6,o
GTT 14 Tage n.d.Kaiserschnitt	69,7 ±3,9	139,4 ±8,3	137 ±1o,8	1o9,9 ±9,6	88,7 ±7,2	77,6 ±5,o	72,7 ±5,1

Alloxan-Gruppe(n=8)

GTT 4 Tage v.d. Trächtigkeit	79,4 ±3,7	155,5 ±12,1	164 ±11,6	16o,1 ±15,5	149,5 ±14,5	138,6 ±15,4	125,4 ±13,1
GTT 14 Tage n.d.Kaiserschnitt	74,3 ±3,9	144,9 ±1o,7	15o,5 ±13,3	139,2 ±13,4	124,1 ±13,2	1o7,2 ±11,6	96,o ±11,4

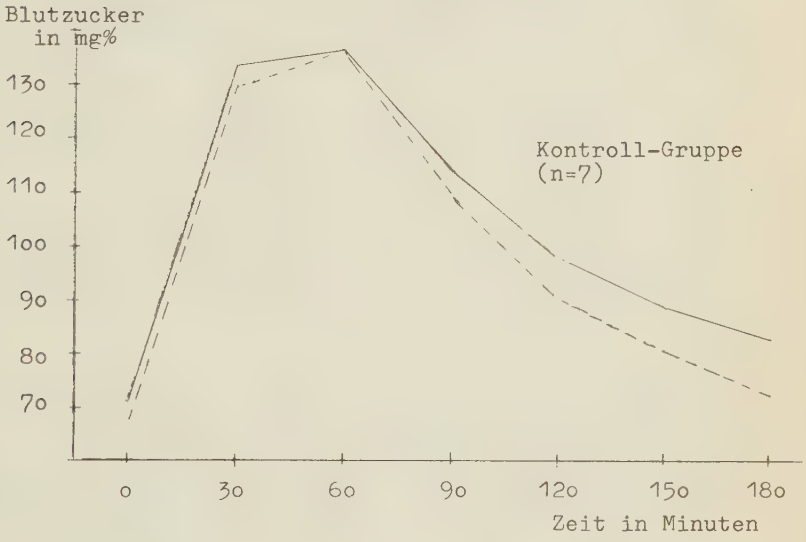
Alloxan-Thalidomid-Gruppe(n=8)

GTT 4 Tage v.d. Trächtigkeit	77,9 ±3,4	161,8 ±11,3	176 ±13,9	173,5 ±15,9	163,2 ±15,o	147,2 ±14,2	133 ±12,5
GTT 14 Tage n.d.Kaiserschnitt	73,9 ±3,7	139 ±8,6	15o ±11,1	144,1 ±14,1	13o,1 ±12,2	1o9 ±12,9	97,3 ±12,5

Fig.1 und 2

Blutzuckerbelastungskurven

——— Vier Tage vor der Paarung
– – – Vierzehn Tage n.d.Kaiserschnitt



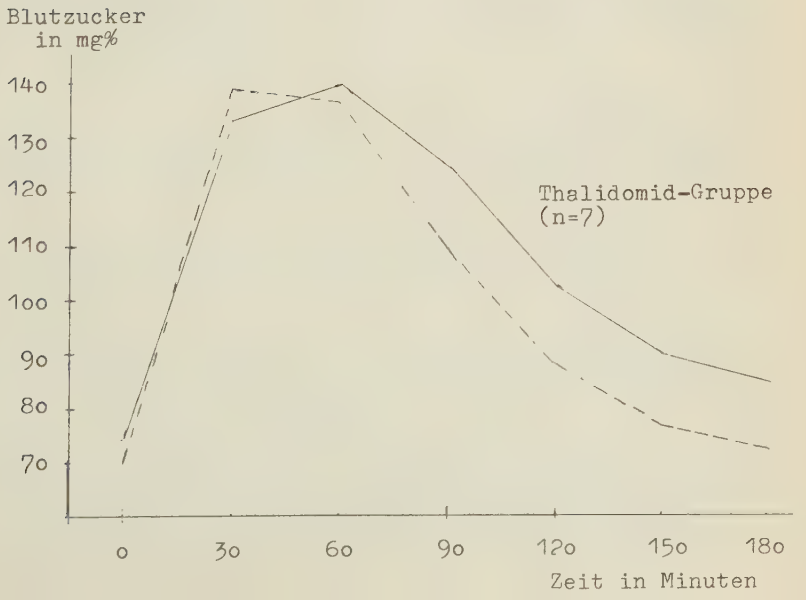
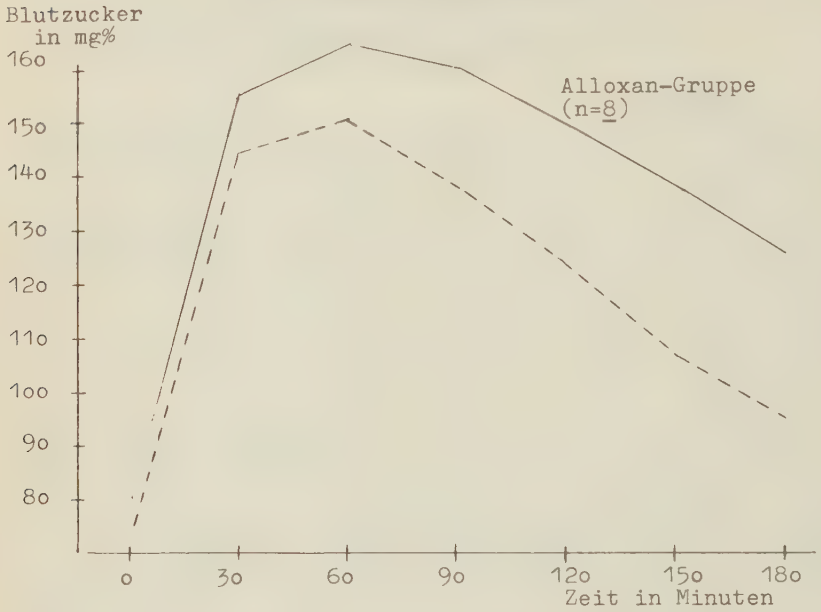
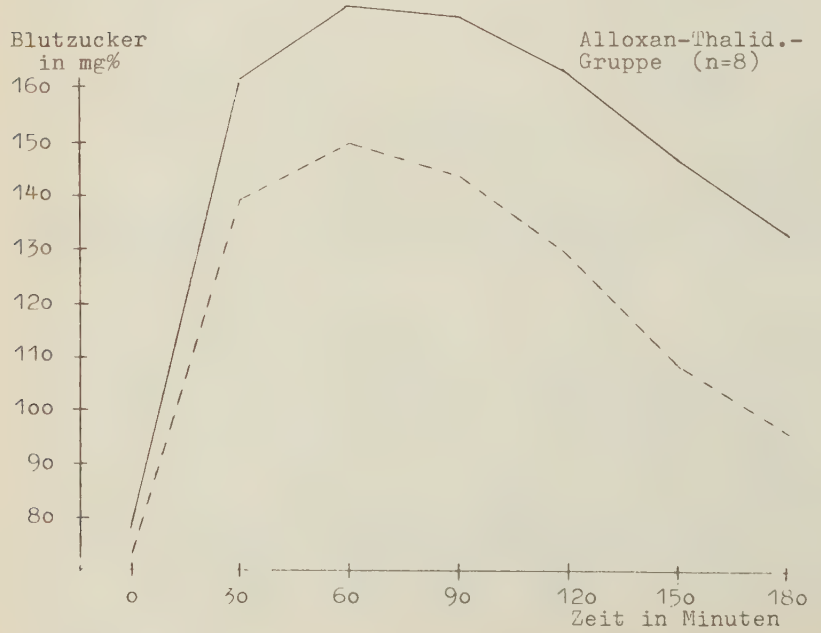


Fig.3 und 4 Blutzuckerbelastungskurven

——— Vier Tage vor der Paarung
– – – – Vierzehn Tage nach d.Kaiserschnitt





Keimesentwicklung vermieden werden.
Vor der Alloxan-Injektion wurden bei den Kaninchen zur Festsetzung des normalen Blutzuckerspiegels einfache Blutzuckerbestimmungen durchgeführt. Die Blutentnahme aus einer Ohrrandvene erfolgte bei den normal gefütterten Tieren morgens zwischen 8 und 9 Uhr. Die durchschnittliche Höhe des Blutzuckerspiegels betrug bei den 65 Versuchskaninchen $97 \pm 6{,}4$ mg/%.
In den ersten Tagen nach der Alloxan-Injektion stiegen die Blutzuckerwerte bei einigen Kaninchen geringgradig an. Ein manifester Diabetes entwickelte sich aber bei keinem Tier. Am zehnten Tag nach der Alloxan-Injektion war der Nüchternblutzuckerwert in allen Fällen normal. An diesem Tage wurde zur Überprüfung der latent-diabetischen Stoffwechsellage der einfache orale Standard-Glukosetoleranztest durchgeführt.
Bei der Auswertung des Glukosetoleranztests zeigten von 37 Kaninchen, die eine subdiabetogene Alloxan-Dosis erhalten hatten, 27 Tiere pathologische Testergebnisse. Die Blutzuckerkurven von 10 Tieren - 4 Tieren der Alloxan-Gruppe und 6 Tieren der Alloxan-Thalidomid-Gruppe - unterschieden sich nicht von den Kurven unbehandelter Kaninchen.
Vierzehn Tage nach der Alloxan-Injektion wurden die Tiere gepaart. Zu diesem Zeitpunkt traten keine größeren Schwankungen des Blutzuckerspiegels mehr auf.
Bei den Kaninchen der Kontroll-Gruppe und der Thalidomid-Gruppe wurde zwei Wochen vor der Paarung durch mehrmalige Blutzuckerbestimmungen die Höhe des normalen Blutzuckerspiegels festgestellt. Auch bei diesen Tieren wurde vier Tage vor der Paarung der orale Glukosetoleranztest durchgeführt. Die Blutzuckerkurven dieser Tiere zeigten keinen pathologischen Verlauf.
Um eine Aufregung der trächtigen Tiere durch Blutentnahmen zu vermeiden, wurden während der gesamten Gravidität keine Blutzuckerbestimmungen vorgenommen.

Blutzuckerspiegel vor und nach der Trächtigkeit

Bei 7 bis 8 Kaninchen aus jeder der vier Versuchstiergruppen wurde die Höhe des Blutzuckerspiegels vor und nach der Trächtigkeit verglichen. Bei diesen Tieren wurde am 29. Trächtig-

keitstag eine Kaiserschnitt-Operation durchgeführt. Alle Tiere trugen zu diesem Zeitpunkt lebende Junge. Das war vor der Operation durch Palpation festgestellt worden. Bei diesen Kaninchen wurden vor der Trächtigkeit die Blutzuckerbestimmungen, die Glukosetoleranztests und bei einem Teil der Tiere die Alloxan-Injektionen, wie oben beschrieben, durchgeführt. Zwei Wochen nach der Kaiserschnitt-Operation wurde bei allen Tieren wieder das Verhalten des Blutzuckerspiegels durch den oralen Glukosetoleranztest überprüft. Zu diesem Zeitpunkt war die Hautwunde verheilt, die Fäden gezogen und die Kaninchen hatten im allgemeinen ihr Ausgangsgewicht vor der Trächtigkeit wieder erreicht.

Das Ergebnis dieser Glukosetoleranztests 4 Tage vor und 14 Tage nach der Trächtigkeit ist in der Tabelle 2 und in den Kurven 1 bis 4 zusammengefaßt. In der Tabelle 2 ist neben den Blutzuckermittelwerten auch der mittlere Fehler des Mittelwertes angegeben.

Bei einem Vergleich der Blutzuckerwerte der Tiere der Kontroll-Gruppe und der Thalidomid-Gruppe beobachtet man einen fast identischen Verlauf der Glukosebelastungskurven. Nach einem steilen Anstieg der Blutzuckerwerte 30 bis 60 Minuten nach der Traubenzuckergabe erfolgt ein konstanter Abfall der Kurven, so daß nach 3 Stunden die Anfangsblutzuckerwerte wieder erreicht sind.

Nach diesen Versuchsergebnissen haben weder die Gravidität selbst noch die Kaiserschnittoperation und deren Nachbehandlung einen Einfluß auf die Höhe des Blutzuckerspiegels, wenn der orale Glukosetoleranztest 14 Tage nach der Operation durchgeführt wird.

Im Hinblick auf eine Störung des Kohlehydrat-Stoffwechsels ist auch die Applikation von Carboxymethylcellulose und Thalidomid vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag ohne Bedeutung. Auch die Mazeration und Resorption eines Teiles der Feten aus der Thalidomid-Gruppe scheint sich nicht auf den Blutzuckerspiegel der Muttertiere auszuwirken. Die scheinbar geringe Verbesserung der Glukosetoleranz ist wohl darauf zurückzuführen, daß sich die Kaninchen durch die tägliche Nachbehandlung nach der Operation noch besser an den Laborbetrieb gewöhnt hatten und sich weniger leicht erregten.

Streßsituationen wie Angst und Aufregung können durch Ausschüttung von Adrenalin eine Blutzuckererhöhung bewirken.

Die beiden Blutzuckerbelastungskurven der Kaninchen aus der Alloxan- und der Alloxan-Thalidomid-Gruppe zeigen dagegen 10 Tage nach der Alloxaninjektion einen pathologischen Verlauf. Die Blutzuckernüchternwerte sind zwar nur geringgradig erhöht, nach der Traubenzuckergabe steigen die Blutzuckerwerte aber über die Normalwerte hinaus steil an, sie erlangen den Gipfel der Kurve erst nach 1 bis 1 1/2 Stunden und fallen danach nur langsam wieder ab, so daß sie nach 3 Stunden noch über den Ausgangswerten liegen. Den verlängerten Anstieg und den verzögerten Abfall der Blutzuckerwerte nach der Glukosegabe führt man auf einen Insulinmangel zurück. Nach der Schädigung der B-Zellen des Pankreas durch das Alloxan stand den Kaninchen nicht genügend Insulin zur Verfügung, um den zugeführten Traubenzucker rasch abzubauen. Es muß aber berücksichtigt werden, daß von 16 operierten Kaninchen 3 Tiere aus der Alloxan-Gruppe und 2 Tiere aus der Alloxan-Thalidomid-Gruppe 4 Tage vor der Paarung keine pathologischen Blutzuckerbelastungskurven zeigten.
Betrachtet man die Mittelwertskurven der Glukosetoleranztests nach der Kaiserschnittoperation, so gleicht sich der Blutzuckerspiegel immer mehr den Normalwerten an. Zu diesem Zeitpunkt wurden nur noch bei je 2 Kaninchen aus jeder Gruppe pathologische Testergebnisse festgestellt.

Nach diesen Versuchsergebnissen war es von großem Interesse zu erfahren, ob bei den Kaninchen, die zwei Monate nach der Alloxan-Injektion auf eine orale Traubenzuckergabe mit einer normalen Belastungskurve reagiert hatten, überhaupt noch eine latent diabetische Stoffwechselstörung vorhanden war. Deshalb wurde bei allen operierten Kaninchen das Verhalten des Blutzuckers auf normalerweise nicht diabetogene Cortison-Dosen getestet. Anschließend an den Glukosetoleranztest, d.h. 14 Tage nach der Kaiserschnittoperation, erhielten alle Tiere tägliche intramuskuläre Injektionen von 1 mg/kg Cortison.
Die täglichen Blutzuckerbestimmungen zeigten bei den Tieren der Kontroll-Gruppe und der Thalidomid-Gruppe eine gewisse Erhöhung des Blutzuckerspiegels, der in 10 Tagen die Grenze

von 170 mg% aber nicht überschritt.
Dagegen konnte bei den Tieren der Alloxan- und der Alloxan-Thalidomid-Gruppe in jedem Fall schon nach wenigen Cortison-Injektionen eine diabetische Erhöhung der Blutzuckerwerte hervorgerufen werden. Bei der einen Hälfte der Tiere genügten 1 bis 2, bei der anderen Hälfte 3 bis 5 Cortison-Injektionen, um den Blutzuckerspiegel auf über 250 mg% zu erhöhen. Weitere Cortison-Injektionen können zu schwersten diabetischen Stoffwechselstörungen und zum Tod der Versuchstiere im hyperglykämischen Coma führen. Deshalb wurden Blutzuckerwerte über 250 mg% als sicherer Hinweis auf das Vorliegen eines latenten Diabetes angesehen.
Aus der Tatsache, daß 8 Wochen nach der Alloxan-Injektion bei allen Tieren durch normalerweise nicht diabetogene Dosen von Cortison schwerste diabetische Stoffwechselstörungen provoziert werden konnten, kann man schließen, daß die Alloxan-Dosis von 35 mg/kg ausreichte, um bei den Kaninchen während der Versuchsdauer eine latent-diabetische Stoffwechselstörung hervorzurufen.
Aus dem Vergleich der Blutzuckerbelastungskurven vor und nach der Trächtigkeit ist ersichtlich, daß sich mit der Dauer des latenten Diabetes eine deutliche Verbesserung der Stoffwechsellage eingestellt hat. Weder die körperlichen Belastungssituationen der Gravidität, der Carboxymethylcellulose- und Thalidomid-Applikationen, der Mazeration und Resorption der abgestorbenen Feten noch der Kaiserschnittoperation und deren Nachbehandlung haben bewirkt, daß sich aus dem latenten Diabetes eine manifeste Zuckerkrankheit entwickelte.
Die verhältnismäßig hohe Zahl von normalen Blutzuckerbelastungskurven - ein Viertel vor und drei Viertel nach der Trächtigkeit - zeigt, daß der einfache orale Standard-Glukosetoleranztest nicht immer empfindlich genug ist, um bei den mit Alloxan vorbehandelten Kaninchen die latente Stoffwechselstörung erkennen zu lassen.
Die zusätzliche Thalidomid-Applikation bei den mit Alloxan vorbehandelten Tieren hat keinen Einfluß auf die Höhe des Blutzuckerspiegels gehabt.

Trächtigkeitserfolg und fetale Entwicklung

Bei allen Kaninchen wurde der Erfolg der Gravidität am 29. Trächtigkeitstag untersucht. Zu diesem Zweck wurde bei einem Teil der Muttertiere eine Kaiserschnittoperation durchgeführt, der Rest der Kaninchen wurde nach Hysterektomie getötet. Durch die makroskopische Inspektion der Gebärmutter wurden die Trächtigkeit, die Zahl der sichtbaren Implantationsstellen, die Zahl der resorbierten oder mazerierten Feten und die Zahl der Jungen festgestellt.
Das Thalidomid wurde vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag gegeben. In dieser Zeitspanne lassen sich beim Kaninchen die meisten schweren Mißbildungen erzeugen. Als Beginn der Behandlung wurde der 6. Trächtigkeitstag gewählt, weil zum Zeitpunkt der Nidation des Keimes - nach GOTTSCHEWSKI u. ZIMMERMANN (53) am 7. Trächtigkeitstag - ein genügend hoher Thalidomidblutspiegel bei den Muttertieren vorhanden sein sollte. Untersuchungen im hiesigen Institut für Biochemie hatten ergeben, daß nach der zweiten Thalidomidgabe die Blutkonzentration noch anstieg. Die Thalidomidapplikation wurde am 11. Trächtigkeitstag beendet. Versuchsergebnisse von FABRO u. SMITH (34) und INGALLS u. Mitarb. (68) hatten gezeigt, daß sich nach dem 11. Trächtigkeitstag beim Kaninchen mit Thalidomid keine Mißbildungen mehr erzeugen ließen. Die tägliche Thalidomid-Dosis betrug 150 mg/kg Körpergewicht. Diese Dosierung hatten die meisten Forscher bei der Untersuchung der teratogenen Wirksamkeit des Thalidomids gewählt. In eigenen Vorversuchen wurde festgestellt, daß nach dieser Thalidomid-Dosierung vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag bei dem verwendeten Kaninchenstamm Mißbildungen der Feten auftraten.
Bei diesen Vorversuchen wurde zur Erkennung der embryotoxischen und teratogenen Wirksamkeit des Thalidomids eine Methode angewandt, die GOTTSCHEWSKI (52) vorgeschlagen hatte. Dieser Autor hält es für unzweckmäßig, mit der Untersuchung der Mißbildungen bis zur Geburt zu warten. Er empfiehlt eine Kaiserschnittoperation schon am 11. oder 17. Trächtigkeitstag. Nach seinen Untersuchungen werden alle Feten, die am 17. Tag noch leben, ausgetragen, auch wenn sie schwere Defekte haben. Außerdem erhält man mit dieser Methode eine

gute Kontrolle über die im Laufe der Entwicklung abgestorbenen und resorbierten Feten.
Bei den eigenen Vorversuchen wurde die Kaiserschnittoperation am 17. Trächtigkeitstag durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt erkannte man noch deutlich die Frühresorptionen, die am 29. Trächtigkeitstag makroskopisch nicht mehr sichtbar waren. Unter den mißgebildeten Feten befanden sich solche mit Exencephalien, Arhinencephalien und Zyklopien. Einzelheiten der Mißbildungen wie auch Veränderungen der inneren Organe sind bei den 2,2 cm langen Keimen selbstverständlich nicht so deutlich zu erkennen wie bei 28 Tage alten Feten.
Zur Operationstechnik am 17. Trächtigkeitstag ist noch zu bemerken, daß der Uterus über jeder Fruchtblase eröffnet werden muß. Die Ablösung der Plazenta mit der gesamten Fruchtblase und dem Fetus verläuft fast völlig unblutig. Die Gebärmutterwunden werden nicht genäht.

Die Untersuchung der Feten auf Mißbildungen erstreckte sich nach der äußeren Besichtigung auf die makroskopische Inspektion des Knochenskeletts nach Aufhellung der Muskulatur mit 1%ig. Kalilauge und Anfärbung der Knochen mit Alizarinrot. Bei vier Feten wurde das Knochenskelett durch Röntgenstrahlen sichtbar gemacht. Die mißgebildeten Feten wurden photographiert und in Formalin oder Glyzerin aufbewahrt.
Einen Überblick über die Entwicklung der Feten in dieser Versuchsserie gibt die Tabelle 3.
In der Tabelle 4 sind die einzelnen Mißbildungen beschrieben, von denen die markantesten auf den Photographien 1 - 20 abgebildet sind.

Besprechung der Ergebnisse der Tabelle 3

Kaninchen ohne sichtbare Implantationsstellen

Vergleicht man in der Tabelle 3 die Kaninchen ohne sichtbare Implantationsstellen, so bemerkt man, daß deren Zahl bei den Muttertieren, die mit Alloxan und/oder Thalidomid behandelt wurden, signifikant erhöht ist. Man kann diese Tiere nicht ohne weiteres als nicht-trächtig bezeichnen, denn beim Kaninchen wird die Ovulation durch den Deckakt provoziert, und nach ADAMS (1) kommt es wohl in jedem Fall zu einer

Tabelle 3

Trächtigkeitserfolg und fetale Entwicklung

Trächtigkeitserfolg:	Kontroll-Gruppe	Alloxan-Gruppe	Thalid.-Gruppe	Alloxan-Thalid.-Gruppe
Versuchstiere insgesamt	8	13	20	24
"ohne sichtb.Implantationen	-	2	4	7
" mit sichtb.Implantationen	8	11	16	17
" mit Totalresorptionen	-	1	6	7
" mit lebenden Feten	8	10	10	10
" mit lebenden Feten in %	100	76,9	50	41,7
Fetale Entwicklung:				
Sichtbare Implantationen	68	82	106	103
Sichtb.Implantationen/Wurf	8,5	7,4	6,6	6,1
Resorb.u.mazerierte Feten	5	20	51	60
Lebende Feten insgesamt	63	62	48	43
Lebende Feten pro Wurf	7,9	6,2	4,8	4,3
Mißbildungen insgesamt	1	1	20	16
Mißbildungen in % d.leb. Feten	1,6	1,6	41,7	37,6
Gewicht der einz.Feten in g	38,2±8,9	36,9±9,o	34,3±7,6	31,6±7,1

Vereinigung von Ei- und Samenzellen. Ein Teil der Keime stirbt aber schon vor der Implantation, ein anderer Teil kurz nach der Implantation ab.
Nach diesen Versuchsergebnissen ist anzunehmen, daß es im Vergleich zur Kontroll-Gruppe bei den Kaninchen, die mit Alloxan und/oder Thalidomid behandelt wurden, zu einer erhöhten Zahl von Frühresorptionen kommt, die am 29. Trächtigkeitstag makroskopisch nicht mehr sichtbar sind.
Ein Kaninchen aus der Thalidomid-Gruppe und zwei Tiere aus der Alloxan-Thalidomid-Gruppe hatten schon zwischen dem 14. und 16. Trächtigkeitstag mit dem Nestbau begonnen. In einem Nest wurden in den ausgerissenen Haaren Blutspuren und Reste einer Plazenta gefunden. Bei diesem Tier ist es zu einem Abort der Feten gekommen. Wahrscheinlich haben auch die anderen beiden Kaninchen ihre Feten abortiert und aufgefressen.

Alloxan-Gruppe:

Von den Versuchstieren mit sichtbaren Implantationsstellen hat in der Alloxan-Gruppe ein Kaninchen (9,1 %) alle Feten resorbiert, während 10 Tiere (90,9 %) am 29. Trächtigkeitstag lebende Junge trugen im Vergleich zu 8 Tieren (100 %) der Kontrollgruppe. Bei den mit Alloxan vorbehandelten Tieren ist die durchschnittliche Zahl der sichtbaren Implantationsstellen pro Wurf mit 7,4 (Kontrolle 8,5) und die Zahl der voll entwickelten Feten mit 6,2 pro Wurf (Kontrolle 7,9) gegenüber den Kontrolltieren verringert. Gleichzeitig ist die Zahl der resorbierten und mazerierten Feten mit 20 Fällen gegenüber 5 in der Kontrollgruppe erhöht. Die Rate der Mißbildungen ist in beiden Gruppen gleich niedrig (1,6 %), dagegen liegt das Endgewicht der Feten in der Kontroll-Gruppe mit 38,2 Gramm etwas höher als in der Alloxan-Gruppe mit 36,9 Gramm.
Zusammenfassend kann man feststellen, daß die latent-diabetische Stoffwechselstörung gewisse Auswirkungen auf die Keimesentwicklung hat hinsichtlich einer geringen Abnahme der Zahl der sichtbaren Implantationen und der Jungen pro Wurf und einer Zunahme der Zahl der resorbierten und mazerierten Feten.
Die verminderte Zahl der sichtbaren Implantationen ist wohl auf eine erhöhte Rate der Frühresorptionen zurückzuführen.

Von Interesse ist es, daß das durchschnittliche Gewicht der Jungen in der Alloxan-Gruppe gegenüber normalen Feten verringert ist.

Thalidomid-Gruppe:

In der Thalidomid-Gruppe fällt bei den Muttertieren die hohe Zahl von Totalresorptionen auf. Von den Kaninchen mit sichtbaren Implantationsstellen haben 6 Tiere (37,5 %) alle Feten resorbiert, während nur 10 Tiere (62,5 %) am 29. Trächtigkeitstag noch lebende Junge trugen. Bemerkenswert ist die hohe Quote der resorbierten und mazerierten Feten. Deutlich vermindert ist auch die Zahl der Implantationen (6,6) und Jungen (4,8) pro Wurf. Von den 48 Jungen sind 20 (41,7 %) mißgebildet. Das Gewicht der Feten ist mit 34,4 Gramm wesentlich niedriger als bei den Kontrolltieren mit 38,2 Gramm. Dieses Ergebnis zeigt die hohe embryotoxische und teratogene Wirksamkeit des Thalidomids in der Frühgravidität. Die geringe Zahl der sichtbaren Implantationen läßt darauf schließen, daß schon zu Beginn der Thalidomid-Applikation vom 6. Trächtigkeitstag an ein Teil der Embryonen abstirbt. Deren Resorptionsstellen sind am 29. Trächtigkeitstag makroskopisch nicht mehr festzustellen.

Alloxan-Thalidomid-Gruppe

Im Hinblick auf die fetale Entwicklung sind die Ergebnisse in der Alloxan-Thalidomid-Gruppe fast identisch mit denen in der Thalidomid-Gruppe. Auch bei den latent alloxandiabetischen Kaninchen scheint nur das Thalidomid die teratogenen Effekte auszulösen. Im Vergleich zur Thalidomid-Gruppe (41,7 %) liegt bei diesen Tieren der Prozentsatz der Mißbildungen (37,6 %) nur unwesentlich niedriger.
Wie sehr die latent diabetische Stoffwechsellage der Muttertiere an der weiteren Zunahme der negativen Auswirkungen auf die Keimesentwicklung mit beteiligt ist, ist nicht genau abzugrenzen. Die im Vergleich zur Thalidomid-Gruppe noch höhere Zahl von Muttertieren ohne sichtbare Implantationsstellen (29,2 %) kann auch durch den latenten Diabetes mitverursacht sein, zumal auch in der Alloxan-Gruppe bei 15,4 % der Kaninchen keine Anzeichen einer Trächtigkeit festgestellt wurden.

Tabelle 4

Mißbildungen

	Kontroll-Gruppe	Alloxan-Gruppe
Deformierung und seitliche Verschiebung eines Schwanzwirbels	1	
Encephalocele an der Nahtstelle zwischen den Ossa parietalia und frontalia		1
Summe	1	1
% d.leb.Feten	1,6	1,6

	Thalid.-Gruppe	Alloxan-Thalid.-Gruppe
Encephalocele an der Nahtstelle zwischen den Ossa frontalia		1
Encephalocele an der Nahtstelle zwischen den Ossa parietalia und frontalia	1	
Zyklopie: ein Auge in einer unpaaren Augenhöhle in der Gegend der Nasenwurzel,darüber ein 1 -1,3 cm langer Rüssel (Proboscis), Fehlen der Nase und der Schneidezähne im Oberkiefer	2	1
Arhinencephalie: eng gestellte äußere Nasenlöcher,Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer	2	3
Arhinencephalie: eng gestellte äußere Nasenlöcher, Verkürzung der Vorderextremitäten, extreme Abwinkelung der Plantarfläche der Vorderpfoten nach außen, Fehlen des Os metacarpale 1 und der Phalanx 1 der ersten Zehe, Fehlen des distalen Teils des Radius	1	
Arhinencephalie:ein geschlossenes Nasenloch, Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer, Fehlende Ossifikation im 5. Sternebrum	1	
Arhinencephalie: ein (geschlossenes) äußeres Nasenloch,Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer,Fehlende Ossifikation der Phalanx 2 in der 5. Zehe vorne	1	
Arhinencephalie mit Gaumenspalte: ein (geschlossenes) äußeres Nasenloch, Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer, mangelhafte Ossifikation im 5. Sternebrum (Herzmißbildung)		1
Arhinencephalie mit Gaumenspalte: ein (geschlossenes) äußeres Nasenloch,Fehlen der schneidezähne im Oberkiefer		1

Fortsetzung der Tabelle 4

	Thalid.-Gruppe	Alloxan-Thalid.-Gruppe
Arhinencephalie mit Gaumenspalte, ein (geschlossenes) äußeres Nasenloch,Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer, Fehlende Ossifikation im 5. Sternebrum und in der Phalanx 2 der 5. Zehe vorne	1	
Arhinencephalie mit Lippen- und Gaumenspalte: Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer	2	
Arhinencephalie mit Lippen-,Kiefer- und Gaumenspalte:Knochendeformierung am wirbelseitigen Rand des rechten Schulterblatts, Schwanzwirbelmißbildungen		1
Arhinencephalie:ein geschlossenes,äußeres Nasenloch,Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer, Hernia ventralis mit Eventration von Teilen der Leber, Verkürzung des Schwanzes (nur vier Schwanzwirbel vorhanden,zwei davon mißgebildet), Mikrophthalmie	1	
Spina bifida lumbo-sacralis, Fehlen des Schwanzes,abnorme Beugehaltung der Hinterextremitäten, verkleinertes Os interparietale, Ossifikationslücke im Os parietale links		1
Ossifikationslücken in den Ossa parietalia	1	1
Fehlende Ossifikation der Phalanx 1 der 1. Zehe und der Phalanx 2 der 5, Zehe vorn		1
Fehlende Ossifikation d.Phalanx 1 d.1.Zehe vorne, Ossifikation im Sternum unsymmetrisch	1	
Fehlende Ossifikation der Phalanx 1 der 1.Zehe vorne links	1	
Fehlende Ossifikation der Phalanx 2 der 5.Zehe vorne		1
Schwanzwirbelmißbildungen und mangelhafte Ossifikation im 5. Sternebrum	1	1
Schwanzwirbelmißbildungen		1
Mangelhafte Ossifikation im 2. und 5. Sternebrum.(2. und 5. Ossifikationszentrum zweigeteilt	1	
Mangelhafte Ossifikation im 5. Sternebrum	3	2
Summe	2o	16
% d. leb. Feten	41,7	37,6

Kurze Erläuterungen zu den folgenden Abbildungen

Auf den folgenden Photographien sind Kaninchenfeten vom 29. Trächtigkeitstag abgebildet.

Die Muttertiere aus der Thalidomid-Gruppe erhielten vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag 150 mg/kg/d Thalidomid p.o.

Bei den Muttertieren aus der Alloxan-Thalidomid-Gruppe wurde 14 Tage vor der Paarung durch eine subdiabetogene Alloxan-Injektion (35 mg/kg i.v.) ein latenter Diabetes erzeugt. Diese Kaninchen wurden vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag mit 150 mg/kg/d Thalidomid p.o. behandelt.

Abb. 1 - 3 Kopf eines Zyklopen (aus der Thalidomid-Gruppe:
Ein Auge (aus zwei Anlagen zusammengesetzt) in einer unpaaren Augenhöhle in der Gegend der Nasenwurzel, darüber ein 1 cm langer Rüssel (Proboscis), der nach rechts abgebogen ist! Fehlen der Nasenlöcher!

Abb. 4 Zwei Feten aus der Thalidomid-Gruppe

Fetus li.: Arhinencephalie (ein geschlossenes, äußeres Nasenloch), Hernia ventralis mit Eventration von einem Teil der Leber, Verkürzung des Schwanzes (nur vier Schwanzwirbel vorhanden, zwei davon mißgebildet), Mikrophthalmie.

Fetus re.: Arhinencephalie (zwei eng gestellte, äußere Nasenlöcher), Verkürzung der Vorderextremitäten, abnorme Abwinkelung der Plantarfläche der Vorderpfoten nach außen (vgl.Abb.6), fehlende Ossifikation des os metacarpale 1 und der Phalanx 1 der ersten Zehe, Fehlen des distalen Teils des Radius (vgl.Abb.9).

Abb. 5 Fetus li. aus der Abb. 4

Abb. 6 Fetus re. aus der Abb. 4

Abb. 7 Beide Feten aus der Abb. 4

Abb. 8 Photographie eines vergrößerten Röntgenbildes der enthäuteten linken Vorderextremität des Fetus li. aus der Abb.7 : Knochenskelett normal

Abb. 9 Photographie eines vergrößerten Röntgenbildes der enthäuteten linken Vorderextremität des Fetus re. aus der Abb.7 : Die erste Zehe ist bei der Präparation abgerissen, es fehlten das Os metacarpale 1 und die Phalanx 1 der ersten Zehe! Fehlen des distalen Teils des Radius!

Abb. 10 Fetus aus der Alloxan-Thalidomid-Gruppe
Arhinencephalie mit Lippen-Kiefer-Gaumenspalte

Abb. 11 Fetus aus der Abb. 10
Zunge herausgeschnitten und Unterkiefer heruntergedrückt

Abb. 12 Fetus re. aus der Abb. 11
Fetus li.:normal

Abb. 13 Kopfmißbildungen: Arhinencephalie-Zyklopie-Reihe
Fetus links: Arhinencephalie, zwei eng gestellte Nasenlöcher
Fetus mitte: Arhinencephalie, ein geschlossenes Nasenloch
Fetus rechts: Zyklopie mit Proboscis

Abb. 14 Mit Alizarin angefärbte Kaninchenschädel von oben
A = normal
B - D: verschiedene Formen der Arhinencephalie: mangelhafte Verknöcherung im Schädeldach, Näherrücken der Augenhöhlen, Reduzierung der Nasenpartie im Oberkiefer

Abb. 15 Die Schädel aus der Abb.17 von der Seite
B - D: vgl. Abb.17: Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer

Abb. 16 Zyklopie mit Proboscis aus der Thalidomid-Gruppe
Seitenansicht

Abb. 17 Röntgenbildphotographie des Zyklopenkopfes aus der Abb.19
Verformung des Gehirnschädels, Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer!

Abb.18-20 Zwei Feten aus der Alloxan-Thalidomid-Gruppe
Fetus li.: normal
Fetus re.: Spina bifida lumbo-sacralis, Fehlen des Schwanzes, abnorme (gekreuzte) Haltung der Hinterbeine

Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

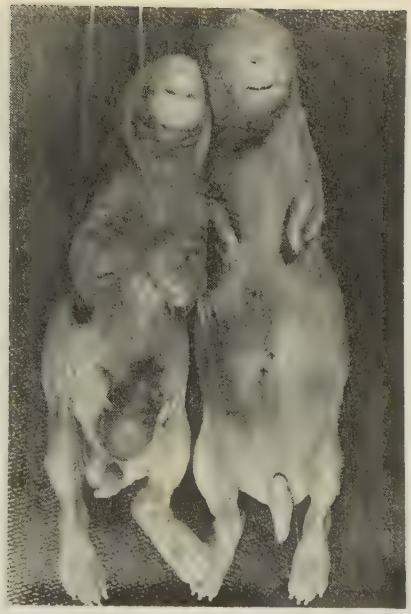


Abb. 4

Abb. 5

Abb. 6

Abb. 7

Abb. 8

Abb. 9

Abb.10

Abb.11

Abb.12

Abb.13

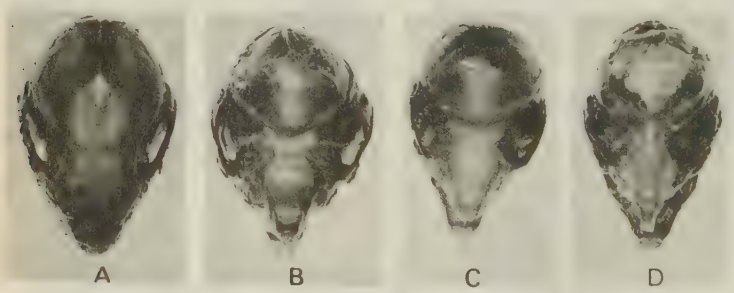


Abb.14

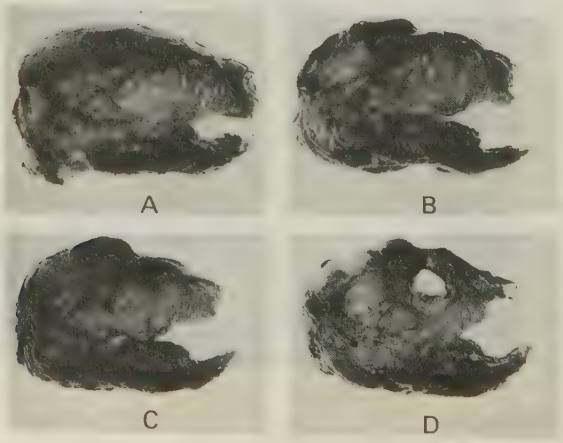


Abb.15

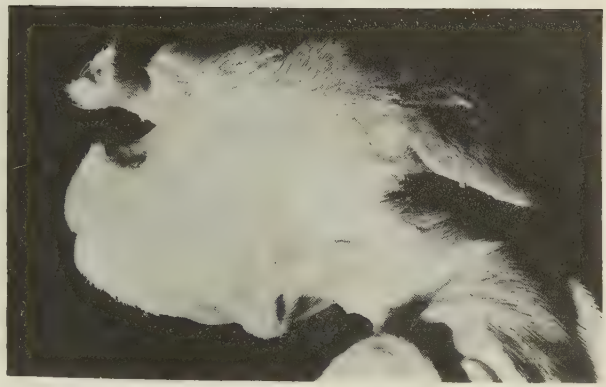


Abb. 16

Abb. 17

Abb. 18

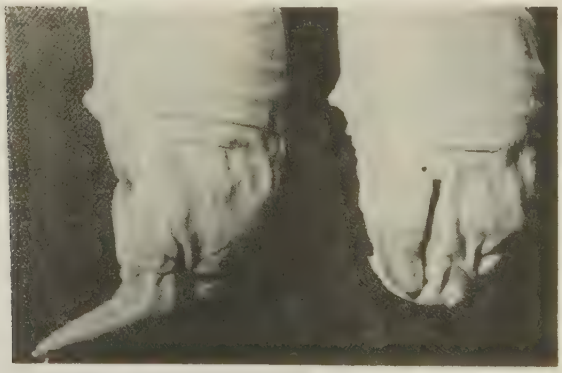


Abb. 19

Abb. 20

Die anderen Auswirkungen der latent-diabetischen Stoffwechsellage scheinen sich im Vergleich zur Thalidomid-Gruppe in einer geringen Abnahme des Gewichts der Feten (31,6 g) und in einer niedrigeren Zahl der sichtbaren Implantationen (6,1) und lebenden Jungen (4,3) pro Wurf sowie in einer etwas höheren Quote der resorbierten und mazerierten Feten zu zeigen.

Besprechung der Ergebnisse der Tabelle 4

In der Tabelle 4 sind Erscheinungsformen der Mißbildungen für alle 4 Versuchstiergruppen zusammengefaßt. Wenn einzelne Feten mehrere Mißbildungen aufwiesen, so sind sie bei diesem Tier nur einmal erwähnt.

Bei der Zahl der Mißbildungen wurde die unterschiedliche Ausbildung der 13. Rippe nicht berücksichtigt. Bei dem verwendeten Kaninchenstamm kamen in allen 4 Gruppen mit ungefähr gleichem Anteil Feten mit 13 oder 12 Rippen oder mit rudimentären 13. Rippen vor. Die rudimentären 13. Rippen waren z.T. nur als kleine Auswüchse oder als punktförmige Verknöcherungen in der Muskulatur erkennbar. Das Fehlen und die verschiedenen Ausbildungsformen der 13. Rippe konnten auch innerhalb eines Wurfes beobachtet werden. Es scheint sich dabei um eine genetische Disposition des verwendeten Kaninchenstammes zu handeln.

Vergleicht man die Mißbildungsquote der Kontroll-Gruppe und der Alloxan-Gruppe, so ist sie in beiden Fällen nur gering (1,6 %). Dabei ist die Encephalocele in der Alloxan-Gruppe sicherlich die schwerwiegendere Mißbildung gegenüber der seitlichen Verschiebung eines Schwanzwirbels in der Kontroll-Gruppe. Wieweit sich die Entstehung der Encephalocele aber auf die latent diabetische Stoffwechselstörung der Muttertiere zurückführen läßt, kann man nach diesem Ergebnis nicht beurteilen.

Bei einem Vergleich der Mißbildungen in der Thalidomid- und in der Alloxan-Thalidomid-Gruppe bemerkt man hinsichtlich des Mißbildungstyps und des Schweregrades der Mißbildungen kaum einen Unterschied. Auch in der Alloxan-Thalidomid-Gruppe scheinen die teratogenetischen Auswirkungen hauptsächlich durch die Thalidomid-Applikation bedingt zu sein. In beiden Gruppen fällt die große Zahl von Arhinencephalien

auf. Zusammen mit der Zyklopie gehören diese Mißbildungen in eine gemeinsame teratologische Reihe (vgl. Abb. 13).
Bei den untersuchten Kaninchenfeten begann die leichteste Form der Arhinencephalie mit einem Näherrücken der äußeren Nasenlöcher, gleichzeitig fehlten immer schon die oberen vier Schneidezähne. Bei schwereren Formen war äußerlich nur noch ein Nasenloch vorhanden, das Os incisivum verschwand schließlich ganz, das Os nasale wurde immer kleiner und vom Os maxillare wurden vorwiegend die distalen und medianen Teile von der Rückbildung betroffen (vgl. Abb. 4, 13, 14 u. 15). Das geschah vorwiegend bei den Formen der Arhinencephalie, die zugleich mit Lippen-, Kiefer- und Gaumenspalten oder einzelnen dieser Spaltbildungen auftraten (vgl. Abb. 10-12). Die Augenhöhlen rückten in der Mitte immer mehr zusammen. An diesem Prozeß waren schon fast alle Knochen des Gesichtsschädels beteiligt, vorwiegend jeweils das Os nasale und Os frontale. In den Ossa frontalia und parietalia traten verschieden große Ossifikationslücken auf (vgl. Abb. 14.u.15).
Die schwerste Form dieser teratologischen Reihe ist die Zyklopie. Bei den drei beobachteten Mißbildungen dieser Art war in der Gegend der Nasenwurzel nur noch eine Augenhöhle vorhanden. An dem unpaaren Auge konnte man aber noch die Zusammensetzung aus zwei Augenanlagen erkennen. Die Ausbildung einer Nase fehlte völlig, dafür befand sich über der unpaaren Augenhöhle in der Medianlinie ein 1 - 1,3 cm langer Rüssel (Proboscis) der Zyklopen, der nach SCHWALBE u. JOSEPHY (133) das Homogolon der Nase darstellt (vgl. Abb. 1-3, 13, 16 u. 17).
Die Formen dieser teratologischen Reihe wurden etwas ausführlicher beschrieben, weil sie in der Thalidomid-Literatur bei Kaninchenversuchen nur äußerst selten erwähnt werden.
Die übrigen Mißbildungen haben schon viele andere Autoren beobachtet, wie es auch aus der Tabelle 1 im Literaturteil hervorgeht. Sie werden in der folgenden Diskussion kurz kommentiert.

D. DISKUSSION

Der latente Diabetes beim Kaninchen

Da sich bei allen operierten Versuchstieren acht bis neun Wochen nach der ersten subdiabetogenen Alloxan-Injektion, d.h. zwei Wochen nach dem Kaiserschnitt, durch normalerweise nicht diabetogene Dosen von Cortison schwere diabetische Stoffwechselstörungen erzeugen ließen, muß man annehmen, daß auch die Kaninchen, die vor der Geburt getötet wurden, während ihrer Trächtigkeit latent zuckerkrank waren. Das steht auch im Einklang mit den Versuchsergebnissen von WELLMANN u. Mitarb. (160), die beim Kaninchen mit nur 12,5 bzw. 25 mg/kg Alloxan einen latenten Diabetes erzeugt haben, und die der Ansicht sind, daß diese latent-diabetische Stoffwechsellage über viele Monate, vielleicht Jahre hinweg anhält. ZUCKER (173) erwähnt, daß der Zustand des latenten Alloxan-Diabetes bei seinen Kaninchen während der ganzen Versuchszeit andauerte, d.h. bis zu 15 Wochen. Die verhältnismäßig hohe Zahl von normalen Blutzuckerbelastungskurven stimmt mit den Versuchsergebnissen von MELLINGHOFF u. Mitarb. (106) überein, die auch nur bei einem Teil ihrer latent diabetischen Tiere pathologische Werte beobachteten, während ZUCKER (173) die verminderte Glukosetoleranz erst nach Injektionen von Nebennierenrinden-Extrakten feststellen konnte. Da in der eigenen Versuchsserie während der Trächtigkeit der Kaninchen keine Blutzuckerbestimmungen durchgeführt wurden, kann man über das Verhalten des Blutzuckers in dieser Zeit wenig aussagen. Bemerkenswert ist aber die Tatsache, daß weder die Trächtigkeit selbst, noch die Thalidomid-Applikation, die Resorption und Mazeration der Feten, die Kaiserschnittoperation und deren Nachbehandlung bei den Versuchstieren den latenten Diabetes in den Zustand des manifesten Diabetes überführt haben.

Auch LAZAROW u. Mitarb. (85) haben nach der Geburt der latent-diabetischen Ratten keine diabetischen Symptome bei den Muttertieren festgestellt. Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu Befunden aus der Humanmedizin, wo viele Autoren (u.a. BARTELHEIMER u. KLOOS (9), HOET (62), HOET u. BRASSEUR

(63) und KATSCH (71) der Schwangerschaft eine diabetogene Wirkung zuschreiben, und zu Versuchsergebnissen bei Ratten. BARANOW u. SOKOLOVEROVA (7) berichteten, daß von 69 latent diabetischen Ratten nach der Geburt ein Drittel der Tiere einen offenen Diabetes bekam, der bei der Hälfte dieser Ratten nach drei bis elf Tagen wieder verschwand, während er sich bei der anderen Hälfte der Tiere in einen manifesten Diabetes verwandelte. Die Autoren betonen, daß nicht die Trächtigkeit selbst, sondern erst die Geburt die Stoffwechselveränderungen hervorgerufen hat. Bei diesen Forschungsergebnissen muß man berücksichtigen, daß der latente Alloxan-Diabetes bei den Ratten schon im Alter von einem Monat erzeugt wurde. Nach MELLINGHOFF u. Mitarb. (106) weiß man aus Erfahrung an teilpankreatektomierten jungen Tieren, daß sich ein zunächst latenter Diabetes mit zunehmendem Körperwachstum und erhöhtem Insulinbedarf verschlechtert, bis er sich schließlich manifestiert. Ähnliche Beobachtungen haben auch FOGLIA u. Mitarb. (42) bei 95 % pankreatektomierten, latent diabetischen Ratten gemacht. Die Trächtigkeit dieser Tiere führte zu einem transitorischen Diabetes.

Warum bei den latent diabetischen Kaninchen dieser Versuchsserie trotz der großen Zahl körperlicher Belastungen kein manifester Diabetes in Erscheinung trat, ist unklar. Wahrscheinlich ist die Stoffwechselstörung durch die einmalige Alloxan-Injektion von 35 mg/kg noch zu gering gewesen. Dafür sprechen auch die Reihe von negativ-diabetischen Glukosetoleranztests.

Die Auswirkungen des latenten Diabetes auf die Entwicklung der Feten

In der Humanmedizin soll der latente Diabetes in der Schwangerschaft bereits gleiche Fruchtschäden wie der manifeste Diabetes verursachen. Dazu gehören neben häufigen Fehl- oder Frühgeburten eine erhöhte Zahl von totgeborenen und mißgebildeten Kindern. Als deutlichste anamnestische Hinweise auf eine diabetische Schwangerschaftsstörung gelten aber die zu schweren (über 4500 g) Kinder.

In der eigenen Versuchsserie waren die Auswirkungen des latenten Diabetes der trächtigen Kaninchen auf die Entwicklung ihrer Feten im Verhältnis zu den Vergleichsgruppen (Kontroll-

bzw. Thalidomid-Gruppe) nur gering. Sie zeigten sich in einer Abnahme der Zahl der sichtbaren Implantationsstellen und in einer Zunahme der Zahl der resorbierten und mazerierten Feten sowie in einer Verringerung des Gewichts der Feten. Eine Erhöhung der Mißbildungsrate wurde nicht festgestellt.

Vergleichbare Ergebnisse über die Trächtigkeit latent diabetischer Kaninchen liegen in der Literatur bisher nicht vor, lediglich HOET u. BRASSEUR (63) haben einen Fall von Totalresorption der Keime bei einem latent alloxandiabetischen Kaninchen beschrieben. Dieses Tier zeigte während der Trächtigkeit vorher nicht beobachtete pathologische Traubenzuckerbelastungskurven. Nach der Resorption der Feten normalisierte sich die Glukosetoleranz wieder.

Beim manifesten Alloxandiabetes der Kaninchen sind die Auswirkungen auf die Keimesentwicklung größer. So berichteten MILLER (106), BARASHNEV (8) und FUJIMOTO u. Mitarb. (48) über eine große Anzahl von abortierten, resorbierten und mazerierten Feten und totgeborenen Jungen. BARASHNEV (8) und FUJIMOTO u. Mitarb. (48) haben auch Mißbildungen beobachtet.

Weitere Experimente über den Verlauf der Trächtigkeit latent diabetischer Tiere wurden bisher nur bei Ratten durchgeführt. So fanden LAZAROW u. Mitarb. (85) bei latent diabetischen Ratten lediglich vermehrt Totgeburten, während FOGLIA u. Mitarb. (42) und LOVE u. Mitarb. (96) auch eine Abnahme des Trächtigkeitserfolges feststellen konnten. Nach LOVE u. Mitarb. (96) bestand kein Unterschied im Geburtsgewicht der Jungen von latent diabetischen Ratten und Kontrolltieren, dagegen beobachteten LAZAROW u. Mitarb. (85) und FOGLIA u. Mitarb. (42), daß die Jungen von latent diabetischen Tieren im Durchschnitt schwerer waren als die Jungen unbehandelter Ratten.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen war bei den eigenen Untersuchungen mit den latent diabetischen Kaninchen das Gewicht der Feten am 29. Trächtigkeitstag im Verhältnis zu den Vergleichsgruppen verringert. Dieses Resultat steht im Einklang zu den Befunden von KIM u. Mitarb. (74), die in Experimenten mit diabetischen Ratten feststellten, daß ein erhöhtes Ge-

burtsgewicht der Jungen durch eine verlängerte Tragezeit zustande kommt. Wurde das Gewicht der Jungen wenige Tage vor der Geburt kontrolliert, so war es bei den Kontrolltieren zur gleichen Zeit noch höher.

Hinsichtlich der Mißbildungen war bei den eigenen Versuchen der Prozentsatz in der Alloxan- und der Kontroll-Gruppe gleich niedrig (1,6 %). Diese Beobachtung zeigt, daß der latente Diabetes der Kaninchen keine Erhöhung der Mißbildungsquote bedingt hat. Ob die Encephalocele in der Alloxan-Gruppe auf die latent diabetische Stoffwechselstörung zurückzuführen ist, kann man nach diesem Ergebnis nicht entscheiden. Es ist aber zu bedenken, daß FUJIMOTO u. Mitarb. (48) gehäuft Gehirnmißbildungen, wie Hydrocephalus, Exencephalie und Ventrikeldefekte, bei der Nachkommenschaft zuckerkranker Kaninchen beobachtet haben. Bei diesen Tieren war die permanente Diabetes auch vor der Trächtigkeit erzeugt worden.

Die Mißbildungen in der Alloxan-Thalidomid-Gruppe sind nach der Häufigkeit ihres Vorkommens und ihrer Erscheinungsformen fast identisch mit denen in der Thalidomid-Gruppe. In beiden Gruppen scheint nur das Thalidomid die teratogenen Effekte ausgelöst zu haben. Im Verhältnis zur Thalidomid-Gruppe zeigen sich die Auswirkungen der latent-diabetischen Stoffwechsellage in der Alloxan-Thalidomid-Gruppe aber in einer leicht erhöhten Quote der resorbierten und mazerierten Feten und in einer Verringerung des Gewichts der Jungen. Bei der Diskussion über die Mißbildungsformen kann man beide Gruppen zusammenfassend besprechen.

Die Auswirkungen des Thalidomids auf die Keimesentwicklung trächtiger Kaninchen

Wenn ein Einfluß des Thalidomids auf das Verhalten des Blutzuckerspiegels bei den trächtigen Muttertieren in dieser Versuchsserie nicht festgestellt wurde, so waren die Auswirkungen auf die Keimesentwicklung bedeutend. Über ein Drittel aller Feten zeigte am 29. Trächtigkeitstag Mißbildungen der äußeren Form oder des Knochenskeletts. Vergleicht man den Prozentsatz der beobachteten Mißbildungen mit den Angaben anderer Autoren in der Tabelle 1 im Literaturteil, so ist er bei vielen Forschern noch höher. Das hat verschiedene

Gründe: Einmal wurden in dieser Versuchsserie die Mißbildungen der inneren Organe nicht untersucht. Dann wurden die Veränderungen der 13. Rippe, die bei dem verwendeten Kaninchenstamm genetisch bedingt waren, nicht berücksichtigt. McCOLL u. Mitarb. (102) haben eine erhöhte Reduktion der 13. Rippe unter Thalidomid-Einfluß erwähnt. Schließlich wurde bei der Auswertung der eigenen Versuchstiere die einfache extreme Beugehaltung der Füße in den Carpal- und Tarsal-Gelenken, die manche Autoren als Klumpfuß bezeichnen, nicht zu den Mißbildungen gezählt. Nach eigenen Beobachtungen ist die Abbiegung der Füße auch eine natürliche Haltung des Fetus im Uterus. Wenn die Feten nach einer Kaiserschnittoperation oder nach der Tötung der Muttertiere nicht sofort aus den Fruchthüllen befreit werden, können sie in dieser Beugehaltung der Pfoten erstarren. Diese Stellung kann dann bei einer späteren Untersuchung Klumpfußbildungen vortäuschen. Eine definitive Entscheidung, ob in diesen Fällen eine Mißbildung vorliegt, kann wohl nur ein Aufzuchtversuch dieser Jungen bringen.

Die Zahl der Implantationen und Resorptionen

Bei den trächtigen Versuchskaninchen, die Thalidomid erhalten hatten, nahm die Zahl der sichtbaren Implantationen, die sich aus der Summe der Jungen und der resorbierten und mazerierten Feten zusammensetzte, gegenüber den Kontrolltieren signifikant ab. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Thalidomid-Versuchen von LARSEN (82), LARSEN u. BRENDAHL (83), McCOLL u. Mitarb. (102), SAWIN u. Mitarb. (122), LOUSTALOT (95) und SCHUMACHER u. Mitarb. (131). Nach SCHUMACHER u. Mitarb. (131) verringert sich die Zahl der sichtbaren Implantationen bei steigender Thalidomid-Dosierung. Bei den Thalidomid-Versuchen anderer Autoren wie STAPLES u. HOLTKAMP (146), WUEST u. Mitarb. (170) und FABRO u. SMITH (34) war die Zahl der sichtbaren Implantationen nicht wesentlich niedriger als in den Kontroll-Gruppen.
Die deutliche Abnahme der Zahl der sichtbaren Implantationen in der eigenen Versuchsserie kann man auf den frühen Zeitpunkt der Thalidomid-Applikation in der Gravidität zurückführen. Durch den im Vergleich zu anderen Forschern relativ frühen Beginn der Thalidomid-Gaben am 6. Trächtigkeitstag scheint

ein Teil der Keime noch vor der Implantation abzusterben. Das war am 29. Trächtigkeitstag makroskopisch nicht mehr festzustellen. Daß eine frühzeitige Thalidomid-Behandlung in der Gravidität zum Absterben der Keime vor der Nidation führt, bestätigen die Versuchsergebnisse von GOTTSCHEWSKI (52) und HAY (54).

Die Zahl der resorbierten und mazerierten Feten ist bei fast allen bisher veröffentlichten Thalidomid-Versuchen an trächtigen Kaninchen erhöht. Dies ist auf die embryotoxische und teratogene Wirkung des Thalidomids in der Frühgravidität zurückzuführen.

Das Gewicht der Feten

Bei den mit Thalidomid behandelten Kaninchen ist das Gewicht der Feten im Verhältnis zu den Vergleichstieren deutlich verringert. Das wird wohl weniger durch die verminderte Futteraufnahme der Muttertiere während der Thalidomid-Behandlung bedingt, als vielmehr durch die allgemeinen Stoffwechselbelastungen, die durch die Mazeration und Resorption der abgestorbenen Feten auftreten können. Neben den äußeren Mißbildungen ist auch noch an eine Reihe innerer Mißbildungen zu denken, die die Gewichtsentwicklung der Feten negativ beeinflussen könnten. Das verringerte Gewicht der Jungen von thalidomidbehandelten trächtigen Kaninchen ist von vielen Autoren bestätigt worden.

Die Mißbildungsformen

Aus der Entwicklungsphysiologie ist bekannt, daß die einzelnen Organe nur zu bestimmten Zeiten mit Mißbildungen auf einen Reiz reagieren und daß jedes Organ lange vor einer sichtbaren Differenzierung in der Anlage determiniert ist. In dieser Determinationszeit können alle möglichen unspezifischen Reize zu Abänderungen der Entwicklung führen. Früher oder später ist das Organ gegen die gleichen Reize unempfindlich. Die Anlage ist in der kritischen Zeit wahrscheinlich durch erhöhte Stoffwechseltätigkeit in einem physiologischen Engpaß und dadurch außerordentlich empfindlich. Solche Zeiten nennt man sensible Perioden oder phänokritische Phasen. Beim Kaninchen sind diese phänokritischen Phasen für die einzelnen Organsysteme von GOTTSCHEWSKI u. ZIMMERMANN (53) bestimmt worden.

Betrachtet man die in den eigenen Versuchen beobachtete hohe Zahl von Kopfmißbildungen, so stehen diese im Einklang mit den Befunden von GOTTSCHEWSKI u. ZIMMERMANN (53), die die phänokritische Phase für den Gesichtsschädel zwischen dem 5. und 7. Tag post coitum festlegten. Durch die Thalidomid-Gabe am 6. Trächtigkeitstag ist diese sensible Phase getroffen worden.

Eine ähnlich hohe Zahl von Kopfmißbildungen erwähnen ROUX u. Mitarb. (120). Diese französischen Autoren haben mit der Thalidomid-Applikation auch am 6. Trächtigkeitstag begonnen. Unter den beobachteten äußeren Mißbildungen waren ein Drittel Exencephalien und ein Drittel Deformierungen des Gesichts. Andere Forscher, die einen Thalidomid-Applikationsbeginn vom 6. Trächtigkeitstag an beschreiben, haben wesentlich weniger Kopfmißbildungen gefunden. Abgesehen von der unterschiedlichen Reaktionsweise der verschiedenen Kaninchenstämme hängt das damit zusammen, daß man in den angelsächsisch sprechenden Ländern dazu übergeht, den Tag der Paarung als Tag 0 der Trächtigkeit zu bestimmen. In einigen Veröffentlichungen ist dieses Datum angegeben, bei anderen ist man auf Vermutungen angewiesen. Auch innerhalb einiger Forschergruppen ist die Zählweise unterschiedlich; so geben WUEST u. Mitarb. (169/171) einmal den Tag der Paarung als Tag 0 und ein anderes Mal als Tag 1 der Trächtigkeit an. Bestimmt man den Tag der Paarung als Tag 0, so wird nach der deutschen Zählweise der Tag der Thalidomid-Applikation um einen Tag zurückverlegt.

Arhinenphalien und Zyklopien, die in der eigenen Versuchsserie gehäuft vorkamen, sind in der Thalidomid-Literatur des Kaninchens unter diesen Bezeichnungen nicht erwähnt. Das kommt einmal daher, daß viele Autoren die Mißbildungen summarisch in einzelnen Systemen zusammenfassen, z.B. Kopfmißbildungen oder Mißbildungen des Nervensystems, zum anderen hängt es damit zusammen, daß viele Forscher mit der Thalidomid-Dosierung zu einem späteren Zeitpunkt der Trächtigkeit begannen und deshalb nicht die phänokritische Phase für diese Art der Mißbildungen trafen. Auch ist eine geringe Ausprägungsform der Arhinencephalie nicht immer leicht als solche zu erkennen. Verschiedene Autoren berichten aber über Mißbildungen, die oft bei den Arhinencephalien der eigenen

Versuchsreihe beobachtet wurden. So erwähnen WUEST u. Mitarb. (170) das Fehlen der Schneidezähne im Oberkiefer und LOOSLI (94) das Näherrücken der äußeren Nasenlöcher. Die Abbildung einer solchen Nasenmißbildung haben auch DEKKER u. MEHRIZI (24) veröffentlicht. Im Zusammenhang mit der Arhinencephalie muß man auch die Lippen-, Kiefer- Gaumenspalten nennen, die HEINE u. Mitarb. (56) bei ihren Thalidomid-Versuchen gefunden haben.

Je einen Fall von Arhinencephalie und Zyklopie hat wohl LARSEN (82) gesehen, obwohl er diese Bezeichnung nicht gebraucht. Er beschreibt aber die Mißbildungen: "only one nostril present, lying in the mesial line" (Arhinencephalie?) und:„no nostril present, protusion like an elephant trunk at forehead and 'perforation' of the skull at base of the trunk" (Zyklopie?).

Setzt man diese Ergebnisse aus der Thalidomid-Literatur und die Befunde der eigenen Versuchsserie in Beziehung zum Zeitpunkt der Thalidomid-Applikation in der Trächtigkeit, so findet man für die phänokritische Phase der Zyklopie-Mißbildungen den 6. Trächtigkeitstag. Die sensible Periode für die schweren Mißbildungen der Arhinencephalie scheint der 7. Trächtigkeitstag zu sein, während leichtere Formen der Arhinencephalie wohl auch noch am 8. Trächtigkeitstag erzeugt werden können.

Die übrigen Mißbildungen der eigenen Versuchsserie sind von fast allen Autoren oft und in großer Zahl beschrieben worden, wie fehlende oder mangelhafte Verknöcherung im Schädeldach, im Brustbein oder in den einzelnen Fußknochen, fehlende oder deformierte Schwanzwirbel und die Verkürzung des Radius mit der starken Abwinkelung der Plantarfläche der Pfote nach außen.

Die mangelhafte Ossifikation im Schädeldach, im Brustbein oder in den Fußknochen ist in der bisherigen Thalidomid-Literatur wie auch in dieser Untersuchung zu den Mißbildungen gezählt worden. Ob es sich dabei um bleibende Veränderungen handelt, kann wohl nur durch einen Aufzuchtversuch der betroffenen Jungen entschieden werden. Bei den leichteren Formen handelt es sich wahrscheinlich nur um verzögerte Wachstumsstadien (Retardierungen).

Daß manche andere Autoren prozentual mehr Extremitätenmißbildungen getroffen haben, liegt daran, daß sie mit der Thalidomid-Applikation 1 bis 3 Tage später begonnen haben. Durch den späteren Zeitpunkt der Thalidomid-Gaben haben sie die sensible Periode für die schweren Kopfmißbildungen nicht mehr erreicht, wohl aber die phänokritische Phase für die Extremitätenmißbildungen, die nach GOTTSCHEWSKI u. ZIMMERMANN (53) zwischen dem 7. und 9. Trächtigkeitstag liegt.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß bei den eigenen Versuchen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Entwicklungsphysiologie der Zeitpunkt der Thalidomid-Gabe für die Ausprägung einer bestimmten Mißbildung entscheidend war. Durch den frühen Beginn der Thalidomid-Applikation in der Trächtigkeit konnte eine Reihe von Zyklopien und Arhinencephalien erzeugt werden, die von anderen Autoren in dieser Häufigkeit noch nicht beschrieben wurden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Zur Untersuchung über den Einfluß von Thalidomid-Gaben auf die Entwicklung der Feten latent alloxandiabetischer, trächtiger Kaninchen wurden die 65 weiblichen Weißen Neuseeländer Kaninchen in vier Gruppen eingeteilt:

Kontroll-Gruppe	-	8 Kaninchen
Alloxan-Gruppe	-	13 Kaninchen
Thalidomid-Gruppe	-	20 Kaninchen
Alloxan-Thalid.-Gruppe	-	23 Kaninchen

Bei den Tieren der Alloxan-Gruppe wurde 14 Tage vor der Paarung durch eine subdiabetogene Alloxan-Dosis (35 mg/kg) ein latenter Diabetes erzeugt. In dieser Gruppe wurden die Auswirkungen der latenten Stoffwechselstörung der Muttertiere auf die Entwicklung ihrer Feten untersucht.
In der Thalidomid-Gruppe wurde der embryotoxische und teratogene Effekt dieses Präparates getestet. Die Kaninchen erhielten vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag 150 mg/kg/d Thalidomid in einer Suspension von 5 mg/kg/d Carboxymethylcellulose und 10 ml Wasser per os mit der Schlundsonde.
In der Alloxan-Thalidomid-Gruppe wurde der Einfluß von Thalidomid-Gaben auf die Entwicklung der Feten latent diabetischer Kaninchen untersucht. Bei den Muttertieren wurde zwei Wochen

vor der Paarung ein latenter Diabetes erzeugt wie bei den Kaninchen der Alloxan-Gruppe. Die Thalidomid-Applikation erfolgte wie bei den Tieren in der Thalidomid-Gruppe.
Die Kaninchen der Kontroll-Gruppe und der Alloxan-Gruppe erhielten vom 6. bis 11. Trächtigkeitstag 5 mg/kg/d Carboxymethylcellulose (CMC), die in 10 ml Wasser suspendiert war, per os mit der Schlundsonde.
Die fetale Entwicklung wurde am 29. Trächtigkeitstag kontrolliert. Zu diesem Zeitpunkt wurde bei 7 bis 8 Muttertieren aus jeder Gruppe eine Kaiserschnittoperation durchgeführt, der Rest der Kaninchen wurde nach Hysterektomie getötet.
Die Untersuchung der Feten erstreckte sich auf die Inspektion der äußeren Form und die makroskopische Besichtigung des Knochenskeletts nach Aufhellung der Muskulatur in 1%ig. Kalilauge und Anfärbung der Knochen mit Alizarin S.
Zur Untersuchung des Blutzuckerspiegels der Muttertiere wurde bei allen Kaninchen vier Tage vor der Paarung ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt, bei den operierten Tieren ebenso 14 Tage nach der Kaiserschnittoperation. Während der Trächtigkeit wurden keine Blutzuckerbestimmungen vorgenommen.
Bei der Auswertung der Glukosetoleranztests vier Tage vor der Paarung zeigten von den Kaninchen, die eine subdiabetogene Alloxan-Injektion erhalten hatten, drei Viertel der Tiere pathologische Testergebnisse, die Blutzuckerkurven der restlichen Kaninchen unterschieden sich nicht von den Kurven unbehandelter Tiere. Vierzehn Tage nach dem Kaiserschnitt war die Glukosetoleranz der mit Alloxan vorbehandelten Kaninchen signifikant verbessert. Zu diesem Zeitpunkt zeigte nur noch ein Viertel der Tiere pathologische Blutzuckerbelastungskurven.
Die entsprechenden Blutzuckerwerte der Tiere aus der Kontroll- und der Thalidomid-Gruppe waren in beiden Fällen normal.
Im Anschluß an den oralen Glukosetoleranztest zwei Wochen nach dem Kaiserschnitt wurde bei allen operierten Kaninchen das Verhalten des Blutzuckers auf normalerweise nicht diabetogene Cortison-Injektionen (1 mg/kg/d) weiter überprüft. Bei allen mit Alloxan vorbehandelten Kaninchen ließ sich die latente Stoffwechselstörung nach ein- bis fünfmaliger Cortison-

Injektion in den Zustand des manifesten Diabetes überführen. Die übrigen Kaninchen wurden auch nach zehntägiger Cortison-Behandlung nicht zuckerkrank.
Dieses Ergebnis zeigte, daß bei den Kaninchen der Alloxan- und der Alloxan-Thalidomid-Gruppe während der Versuchsdauer eine latent diabetische Stoffwechselstörung vorhanden war, die sich durch den oralen Glukosetoleranztest allein nicht immer nachweisen ließ.
Die Thalidomid-Applikation hatte keinen Einfluß auf die Höhe des Blutzuckerspiegels.

Die Auswirkungen der latent alloxandiabetischen Stoffwechsellage der Muttertiere auf die Keimesentwicklung waren nur gering. Sie zeigten sich am 29. Trächtigkeitstag bei den Kaninchen der Alloxan-Gruppe im Vergleich zu den Kontrolltieren in einer gewissen Abnahme der Zahl der sichtbaren Implantationen und lebenden Jungen und einer Zunahme der Zahl der resorbierten und mazerierten Feten. Das durchschnittliche Gewicht der Jungen der Alloxan-Gruppe betrug 36,9 Gramm im Vergleich zu 38,2 Gramm der Kontrolltiere. Der Prozentsatz der Mißbildungen war in beiden Gruppen gleich niedrig (1,6 %). Dagegen waren bei den Kaninchen der Thalidomid-Gruppe die negativen Auswirkungen dieses Präparates auf die Entwicklung der Feten sehr groß. Die Zahl der sichtbaren Implantationsstellen und lebenden Jungen sowie das Gewicht der Jungen (34,3 g) waren signifikant verringert, die Zahl der resorbierten und mazerierten Feten deutlich erhöht. Von den Jungen waren 41,7 % mißgebildet.
Hinsichtlich der fetalen Entwicklung waren die Ergebnisse in der Alloxan-Thalidomid-Gruppe fast identisch mit denen in der Thalidomid-Gruppe. Auch bei den latent alloxandiabetischen Kaninchen scheint nur das Thalidomid allein die teratogenen Effekte ausgelöst zu haben. Im Vergleich zur Thalidomid-Gruppe liegt bei diesen Tieren der Prozentsatz der Mißbildungen (37,6 %) nur unwesentlich niedriger, dagegen waren die Zahl der sichtbaren Implantationen und lebenden Jungen und das Gewicht der Jungen (31,6 g) nochmals etwas verringert und der Anteil der resorbierten und mazerierten Feten leicht erhöht. Ein Unterschied im Typ und Schweregrad der Mißbildungen war zwischen diesen beiden Versuchstier-

gruppen nicht festzustellen.

Von den verschiedenen Mißbildungstypen wurden in dieser Versuchsserie registriert: Encephalocelen, Arhinencephalien, Zyklopien, Spina bifida, Mikrophthalmie, Hernia ventralis, Verkürzung des Radius, fehlende und mißgebildete Schwanzwirbel sowie fehlende und mangelhafte Verknöcherung in den Zehenknochen, im Brustbein und im Schädeldach.

F. LITERATURVERZEICHNIS

Adams, C.E.	Studies on prenatal mortality in the rabbit, Oryctolagus cuniculus, the amount and distribution of loss before and after implantation J.Endocrin.19:325-344,1959
Althoff, J. Mohr, U. Pielsticker, K. u. Zimmer, F.	Experimentelle Untersuchungen zum Gestoseproblem bei alloxandiabetischen Ratten Z.ges.exp.Med.145:106-110,1968
Angervall, L.	Alloxan diabetes and pregnancy in the rat. Acta Endocrin.31,Suppl.44:1-86,1959
Arbab-Zadeh, A.	Tierversuche mit Thalidomid und Thalidomid-Serum-Mischung Med.Klin.60:1733-1736,1965
Arbab-Zadeh, A.	Rechtliche und soziale Aspekte der angeborenen Mißbildungen Wien.med.Wschr.117:390-393,1967
Badtke, G. Degenhardt,K-H. Stengel, H.	Untersuchungen zur Frage teratogener Wirkungen des Thalidomids im Tierversuch Z.Versuchstierk.4:25-31,1964
Baranov, V.G. u. Sokoloverova,I.	Experimental model of latent diabetes mellitus in rats and factors promoting transition to overt diabetes Fed.Proc.(Transl.Suppl)25:55-58,1966
Barashnev, Yu.I.	Malformation of fetal brain resulting from alloxan diabetes in mother Fed.Proc.(Transl.Suppl.)24:328-336,1965
Bartelheimer,H. u. Kloos, F.	Die Auswirkungen des experimentellen Diabetes auf Gravidität und Nachkommenschaft Z.ges.exp.Med.119:246-265,1952
Beckmann, R.	Über das Verhalten von Thalidomid im Organismus I Arzneimittel-Forsch.12:1095-1098,1962
Beckmann, R.	Über das Verhalten von Thalidomid im Organismus II Arzneimittel-Forsch.13:185-191,1963
Bignami, G. Bovet, D. Bovet-Nitti,F. u.Rosnati, V.	Thalidomid and congenital abnormalities Lancet II, 1333,1962
Bore, P.J. u. Scothorne, J.	Effect of thalidomide on survival of skin homografts in rabbits Lancet I:1240-1241,1966

14	Bough, R.G. Gurd, M.R. Hall J.E. u. Lessel, B.	Effect of Methaqualone hydrochloride in pregnant rabbits and rats Nature 200:656-657,1963
15	Brent, R.L.	Drug testing in animals for teratogenic effects:thalidomide in the pregnant rat J.Pediat.64:762-770,1964
16	Burley, D.M.	Neuropathy after thalidomide (Distaval)? Brit.Med.J.I:1286,1961
17	Burley, D.M.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet I:271,1962
18	Cahen, R. Sautai, M. Montagne, J.u. Pessonier, J.	Recherche de l'effet teratogene de la 2-diethylaminopropiophenone Med.exp.10:201-224,1964
19	Christie, G.A.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet II:249,1962
20	Ciciliani, J. u. Tolks, H.	Ergebnisse systematischer Untersuchungen bei 96 Dysmeliekindern Med.Welt 1966:2301-2307,1966
21	Cook, M.J. u. Moore, D.F.	The effect of thalidomide on the developing rat foetus Brit.J.Exp.Path.48:150-158,1967
22	Creutzfeldt,W. u. Perings, H.	Diabetes und Schwangerschaft Wien.med.Wschr.117:281-286,1967
23	Davis, M.E. Fugo, N.W. u. Lawrence, K.G.	Effect of alloxan diabetes on reproduction in the rat Proc.Soc.Exp.Biol.Med.66:638-641,1947
24	Dekker, A. u. Mehrizi, A.	The use of thalidomide as a teratogenic agent in rabbits Bull.Johns Hopkins Hosp.115:223-230, 1964
25	Delahunt, C.S. u.Lassen, L.J.	Thalidomide syndrome in monkeys Science 146:1300-1305,1964
26	Dirschel, W.	Fermente-Hormone-Vitamine II:54-60 (Eds.:Ammon,R. u. Dirschel,W.) G.Thieme-Verlag-Stuttgart,1960
27	Drobeck, H.P. Coulston, F. u. Cornelius, D.	Effects of thalidomide on fetal development in rabbits and on establishment of pregnancy in monkeys Toxicol.Appl.Pharmacol.7:165-178,1965
28	Dwornik, J.J. u. Moore, K.L.	Skeletal malformation in the Holtzman rat embryo following the administration of thalidomide J.Embryol.Exp.Morphol.13:181-193,1966
29	Endo, A.	Teratogenesis in diabetic mice treated with alloxan prior to conception Arch.Environ.Health 12:492-500,1966

30 Endo, A. u. Ingalls, Th.H. — Chromosomal anomalies in embryos of diabetic mice Arch.Environ.Health 16:316-325,1968

31 Esser, H. u. Heinzler, F. — Klinische Erfahrungen mit einem Sedativum und Hypnotikum Ther.Gegenw.95:376-378,1956

32 Fabro, S. Schumacher, H. Smith, R.L. u. Williams, R.T. — Identification of thalidomide in rabbit blastocysts Nature 201:1125-1126,1964

33 Fabro, S. Schumacher, H. Smith, R.L. Stagg, B.L. u. Williams, R.T. — The metabolism of thalidomide:some biological effects of thalidomide and its metabolites Brit.J.Pharmacol.25:325-362,1965

34 Fabro, S. u. Smith, R.L. — The teratogenic activity of thalidomide in the rabbit J.Path.Bact.91:511-519,1966

35 Fabro, S. Smith, R.L. u. Williams, R.T. — The fate of (^{14}C) thalidomide in the pregnant rabbit Biochem.J.104:565-569,1967

36 Fabro, S. Smith, R.L. u. Williams, R.T. — The fate of hydrolysis products of thalidomide in the pregnant rabbit Biochem.J.104:570-574,1967

37 Fabro, S. Smith, R.L. u. Williams, R.T. — Toxicity and teratogenicity of optical isomeres of thalidomide Nature 215:296,1967

38 Faigle, J.W. Keberle, H. Riess, W. u. Schmid, K. — The metabolic fate of thalidomide Experientia 18:389-397,1962

39 Felisati, D. — Thalidomide and congenital abnormalities Lancet II:724-725,1962

40 Felisati, D. u. Nodari, R. — Effets toxiques et teratogeniques de la thalidomide sur le foetus de Lapin Schweiz.med.Wschr.93,1559-1563,1963

41 Felisati, D. — Teratogenic action of thalidomide Lancet I: 724,1964

42 Foglia, F.G. Borghelli, R.F. Chieri, R.A. Fernandes-Collazo, E.L. Spindler, I. u. Wesely, O. — Sexual disturbances in the diabetic rat Diabetes 12:231-237,1963

43 Fox, R.R. Sawin, P.B. Crary, D.D. u. Wuest, H.M. — Intravenous injection of thalidomide in pregnant rabbits Science 153:310-311,1966

44 Florence, A.C. — Is thalidomide to blame? Brit.Med.J. II:1964,1960

45	Fratta, I.D. Sigg, E.B. u. Maiorana, K.	Teratogenic effects of thalidomide in rabbits,rats,hamsters and mice Toxicol.Appl.Pharmacol.7:268-286,1965
46	Frerichs, H. u. Creutzfeldt, W.	Diabetes durch Beta-Zytotoxine in: Handbuch des Diabetes mellitus (Eds.:E.F.Pfeiffer) J.F.Lehmanns-Verlag-München, 1969, S.811-840
47	Fritz, H.	Failure of thalidomide metabolites to produce malformations in the rabbit embryo J.Reprod.Fert.11:157-159,1966
48	Fujimoto, S. Sumi, T. Kuzukawa, S. Tonoike, H. Miyoshi, T. u. Nakamura, S.	The genesis of experimental anomalies: fetal anomalies in reference to experimental diabetes in rabbits J.Osaka City Med.Cent.7:62-66,1958 (japanisch)
49	Gibbels, E.	Toxische Schäden bei der Thalidomid-Medikation Fortschr.Neurol.Psychol.35:393-411, 1967
50	Giroud, A. Tuchmann-Duplessis, H. u. Mercier-Parot, L.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet II:298-299,1962
51	Görgen, H. Kramer, M. u. Schulze, E.	Production of spontaneous diabetes in rats by the treatment of the parent generations with alloxan Naunyn-Schmiedebergs Archiv Pharmakol.exp.Pathol.259:173-174,1968
52	Gottschewski, G.	Das Entstehen bestimmter äußerer Mißbildungen als Folge exogener Reize beim Säugetier Med.Welt 50:2545-2556,1963
53	Gottschewski, G. u.Zimmermann, W.	Nachweis von phänokritischen Phasen verschiedener Organanlagen beim Hauskaninchen Oryctolagus cuniculus Verh.Dtsch.Zool.Ges.1963,144-176,1964
54	Hay, M.F.	Effects of thalidomide on pregnancy in the rabbit J.Reprod.Fert.8:59-76,1964
55	Heine, W. Kirchmair, H. Fiedler, M. u. Stüwe, W.	Thalidomid-Embryopathie bei Kaninchen nach passagerer Leberschädigung der Muttertiere durch Tetrachlorkohlenstoff Klin.Wschr.42:592,1964
56	Heine, W. Kirchmair, H. Fiedler, M. u. Stüwe, W.	Thalidomid-Embryopathie im Tierversuch: Reproduktion der Thalidomid-Embryopathie im teratologischen Versuch bei Kaninchen mit passagerer Leberschädigung Z.KinderheilK.91:213-221,1964

57	Heine, W.	Thalidomid-Embryopathie im Tierversuch: Teratologische Testung von Thalidomid-abbauprodukten Z.Kinderheilk.96:141-146,1966
58	Hellmann, K.	Hemmung der Immunisierungsreaktion durch Thalidomid und die Folgen dieses Vorganges für die Theorie der teratogenen Wirkung dieser Substanz Wien.med.Wschr.117:415-418,1967
59	Helm, F.	Tierversuche zur Frage einer teratogenen Wirkung von Arzneimitteln Vortrag vor der Ärztekammer Nordrhein in Aachen am 15.1.1963
60	Helm, F.	Tierexperimentelle Untersuchungen und Dysmeliesyndrom Arzneim.Forsch.16:1232-1244,1966
61	Hendrickx, A.G. Axelrod, R.L.u. Clayborn, L.D.	'Thalidomide' syndrom in baboons Nature 210:958-959,1966
62	Hoet, J.P.	Carbohydrate metabolism during pregnancy Diabetes 3:1-12,1954
63	Hoet, J.P. u. Brasseur, L.	Le metabolisme des glucides au cours de la gestation Ann.d'Endocrin.15:26-45,1954
64	Homburger, F. Chaube, S. Eppenberger, M. Bogdonoff, P.D. u. Nixon, C.W.	Susceptibility of certain imbred strains of hamsters to teratogenic effects of thalidomide Toxicol.Appl.Pharmacol.7:686-693,1965
65	Horii, K. Watanabe, G. u. Ingalls, Th.H.	Experimental diabetes in pregnant mice: prevention of congenital malformatios in offspring by insulin Diabetes 15:194-204,1966
66	Howell, S.L. u. Taylor, K.W.	The acute pancreatic effect of alloxan in the rabbit J.Endocrin.37:421-427,1967
67	Hugget, A.ST.G. u. Nixon, D.A.	Enzymic determination of blood glucose Biochem.J.66:12P (1957)
68	Ingalls, Th.H. Curley, F.J. u. Zappasodi, P.	Thalidomide embryopathy in hybrid rabbits New Engl.J.Med.271:441-444,1964
69	Jacobs, H.R.	Hypoglycemic action of alloxan Proc.Soc.Exp.Biol.Med.37:407-409,1937
70	Jung, H.	Klinische Erfahrungen mit einem neuen Sedativum Arzneim.Forsch.6:430-432,1956
71	Katsch, G.	Schwangerschaft als Belastungsprobe für Diabetikerinnen Zblt.Gynäk.24:1756-1766,1950

72	Keberle, H. Loustalot, P. Maller, R.K. Faigle, J.W. u. Schmid, K.	Biochemical effects of drugs on the mammalian conceptus Ann.New York Acad.Sci.123:252-262, 1965
73	Kemper, F.	Thalidomid-Studien Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path. u. Pharmak.246:55-56,1963/64
74	Kim, J.N. Runge, W. Wells, L.J. u. Lazarow, A.	Effects of experimental diabetes on the offspring of the rat Diabetes 9:396-404,1960
75	King, C.G.T. u. Kendrick, F.J.	Teratogenic effects of thalidomide in the Sprague Dawley rat Lancet II,1116,1962
76	Klein-Obbink, H.J. u. Dalderup, L.M.	Effects of thalidomide on the rat foetus Experientia 19:656-657,1963
77	König, A.	Statistische Betrachtungen zum Alloxandiabetes des Kaninchens Z.ges.exp.Med.130:484-496,1958/59
78	Koranski, W. u. Ullberg, S.	Autoradiographic investigations of ^{14}C-labelled thalidomide and gluthethimide in pregnant mice Proc.Soc.Exp.Biol.Med.116:512-516, 1964
79	Koskenoja, M.	Alloxan diabetes in the pregnant mouse Acta Ophthal.(Kbh.),Suppl.68:1-92, 1961
80	Kreipe, U.	Mißbildungen innerer Organe bei Thalidomidembryopathie Arch.Kinderheilk.176:33-61,1968
81	Kunz, W. Keller, H. u. Mückter, H.	N-Phthalyl-glutaminsäure-imid Arzneim.Forsch.6:426-430,1956
82	Larsen, V.	The teratogenic effects of thalidomide, imipramine HCl and imipramine-N-oxide HCl on white danish rabbits Acta Pharmacol.Toxicol.20:186-200, 1963
83	Larsen, V. u. Brehdahl, E.	The embryotoxic effect on rabbits of monophenylbutazone(Monazan) compared with phenylbutazone and thalidomide Acta Pharmacol.Toxicol.24:443-455,1966
84	Lawrence, A.M. u. Contopoulus, A.N.	Reproductive performance in the alloxan diabetic female rat Acta Endocrin.(Kbh.)33:175-178,1960
85	Lazarow, A. Kim, J.N. u. Wells, L.J.	Birth weight and fetal mortality in pregnant subdiabetic rats Diabetes 9:114-117,1960

86	Lechat, P. Deleau, D. Boime, A. u. Bunot, O.	Resultats negatifs d'une recherche des effets teratogenes du N-methyl-phthalimide Therapie 19:1393-1399,1964
87	Lee, J.M. u. Stetten, D.	Studies in alloxan metabolism J.Biol.Chem.197:205-214,1952
88	Lenz, W. u. Knapp, K.	Die Thalidomid-Embryopathie Dtsch.med.Wschr.87:1232-1242,1962
89	Lenz, W.	Das Thalidomid-Syndrom Fortschr.Med.81:148-155,1963
90	Levi, J.E. u. Weinberg, T.	Pregnancy in alloxan diabetic rats Proc.Soc.Exp.Biol.Med.72:658-662,1949
91	Lindan, O. u. Morgans, M.E.	Alloxan diabetes and pregnancy: a long term observation J.Endocrin.6:463-469,1950
92	Lisewski, G. u. Mohnike, G.	Über das Verhalten des Blutzucker-spiegels nach Alloxaninjektion bei Kaninchen Endokrinologie 38:306-317,1959
93	Loosli, R.	Erzeugung fötaler Mißbildungen am Kaninchen mit Thalidomid Path.Microbiol.27:1003-1011,1964
94	Loosli, R. u. Theiss, E.	Methodik und Problematik der medikamentös-experimentellen Teratogenese Bull.schweiz.Akad.med.Wiss.20:398-416,1964
95	Loustalot, P.	Tierexperimentelle Abklärung teratogener Nebenwirkungen von Pharmaka in: Medikamentöse Pathogenese fetaler Mißbildungen (Eds.:E.Koller u.W.Erb) (Karger,Basel/New York 1964) S.29-39
96	Love, E.J. Kinch, R.A.H. u. Stevenson, J.A.F.	Effect of alloxan induced diabetes on the pregnancy of rats Amer.J.Obstet.Gynec.80:535-541,1960
97	Lucey, J.F. u. Behrmann, R.E.	Thalidomide;effect upon pregnancy in the rhesus monkey Science 139:1295-1296,1963
98	v.Massenbach, W. u.Severin, G.	Die Dysmelie in der Sicht des Geburtshelfers Wien.med.Wschr.117:397-399,1967
99	Mayer, J.B. u. Camara, J.J.R.	Die Auswirkungen der diabetischen Stoffwechsellage der Mutter auf das werdende Kind (Embryopathia diabetica) Dtsch.med.Wschr.89:974-983,1964
100	McBride, W.G.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet II:1358,1961
101	McColl, J.D. Globus, M. u. Robinson, S.	Effect of some therapeutic agents on the developing rat foetus Toxicol.Appl.Pharmacol.10:244-252, 1967

102	McColl, J.D. Globus, M. u. Robinson, S.	Effect of some therapeutic agents on the rabbit fetus Toxicol.Appl.Pharmacol.10: 409-417, 1967
103	McKenzie, R.D. u. McGrath, W.R.	Absorption of thalidomide in the rat Proc.Soc.Exp.Biol.Med.109:511-515, 1962
104	Mauss, H.J. u. Stumpe, K.	Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Thalidomid-Embryopathie Klin.Wschr.41:21-25,1963
105	Mehnert, H.	Prädiabetes Dtsch.med.Wschr.89;688-692,1964
106	Mellinghoff, K. Grabbe, W. u. Drescher, J.	Experimentelle Untersuchungen über den Alloxandiabetes mit kleinen Dosen Z.ges.exp.Med.115:655-676, 1950
107	Miller, H.C.	The effect of pregnancy complicated by alloxan diabetes on the fetuses of dogs, rabbits and rats Endocrinology 40:251-258,1947
108	Murad, J.E. u. Alvarenga, R.T.	Amelie et micromelie provoquees par le thalidomide chez le foetus de Souris Therapie 19:1405-1409,1964
109	Nachtsheim, H.	Derzeitiger Stand der Mißbildungsforschung Der öffentl.Gesundheitsdienst 25: 447-464,1963
110	Okamoto, K.	Apparent transmittance of factors to offspring by animals with experimental diabetes in:On the treatment and nature of diabetes (Eds.:B.S.Leibl u. G.A.Wrenshall) pp.627-637, Exc.Med.Found.1965
111	DiPaolo, J.A.	Congenital malformations in strain A mice J.A.M.A.183:139-141,1962
112	Pearn, J.H. u. Vickers, T.H.	The rabbit thalidomide embryopathie Brit.J.Exp.Path.47:186-192,1966
113	Pliess, G.	Beitrag zur teratologischen Analyse des neuen Wiedemann-Dysmelie-Syndroms (Thalidomid-Mißbildungen?) Med.Klin.57;1567-1573,1962
114	Püschel, E.	Zur Geschichte der Dysmelien und ihrer ätiologischen Vorstellungen Wien.med.Wschr.117:371-375,1967
115	Riemschneider, R. Brockmeyer, K. u. Sommer, H.	Über die teratogene Wirkung organischer Verbindungen I Eine Laboratoriums-Testmethode Z.Naturforsch.18b:167-168,1963

116	Riemschneider, R. u.Brockmeyer, K.	Teratogene Wirksamkeit organischer Verbindungen III: Weitere Thalidomid-Versuche Z.Naturforsch.18b:584-585,1963
117	Robertson, W.F.	Thalidomide (Distaval) and vitamin-B-deficiency Brit.Med.J.I:792,1962
118	Roe, F.J.C. Walters, A. u. Mitchley, B.C.V.	Tumor-incidence in progeny of thalidomide-treated mice Brit.J.Cancer 21:331-333,1967
119	Ross, O.S. u. Spector, S.	Production of congenital abnormalities in mice by alloxan Amer.J.Dis.Child.84:647-648,1952
120	Roux, C. Cahen, R. u. Dupois, R.	Malformations viscerales provoquees par le thalidomide chez le Lapin C.R.Soc.Biol.159:1059-1063,1965
121	Sachsse, B. u. Yazfandar, A.	Diagnostische Kriterien des Frühdiabetes Dtsch.med.Wschr.93:57-67,1968
122	Sawin, P.D. Crary, D. Fox, R.R. u. Wuest, H.M.	Thalidomide malformations and genetic background in rabbits Experientia 21; 672-676,1965
123	Scheid, H. Wieck, H.H. Stammler, A. Kladetzky, A. u.Gibbels, E.	Polyneuritische Syndrome nach längerer Thalidomid-Medikation Dtsch.med.Wschr.86:938-940,1961
124	Scherbarth, R.	Untersuchung über die Wechselwirkung zwischen Thalidomid und bestimmten Nährstoffen bei Ratten Vet.med.Diss.Gießen,1965
125	Scheuch, E.K.	Zur Methodik und Statistik der Dysmelieforschung Wien.med.Wschr.117:402-415,1967
126	Schmidt, L.H.	zit.nach Wilson u. Gavan (167)
127	Schultz, W. u. Sierts-Roth, U.	Thalidomid im Tierversuch in:Medikamentöse Pathogenese fetaler Mißbildungen, Symposium in Liestal 1963, pp.40-46, (Karger,Basel/New York 1964)
128	Schumacher, H. Smith, R.L. u. Williams, R.T.	The metabolism of thalidomide: The spontaneous hydrolysis of thalidomide in solution Brit.J.Pharmacol.25:324-337,1965
129	Schumacher, H. Smith, R.L. u. Williams, R.T.	The metabolism of thalidomide: The fate of thalidomide and some of its hydrolysis products in various species Brit.J.Pharmacol.25:338-351,1965

130	Schumacher, H. Blake, D. u. Gillette, J.R.	Thalidomide solutions Science, 154:1362,1967
131	Schumacher, H. Blake, D. Gurian, J.M. u. Gillette, J.R.	A comparison of the teratogenic activity of thalidomide in rabbits and rats J.Pharmacol.Exp.Ther.160:189-200, 1968
132	Schumacher, H. Blake, D. u. Gillette, J.R.	Disposition of thalidomide in rabbits and rats J.Pharmacol.Exp.Ther.160:201-211, 1968
133	Schwalbe, E. u. Josephy, H.	Die Mißbildungen des Kopfes II in: Die Morphologie der Mißbildungen des Menschen und der Tiere III (Eds.:E.Schwalbe),G.Fischer Verlag Jena,1909,S.205-246
134	Seller, J.M.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet II:249,1962
135	Sheskin, J.	Therapie der Lepra-Reaktion mit Thalidomid (Eine Doppelblind-Studie) Hautarzt 17:548-549,1966
136	Sievers, G.	Klinisch-statistische Studien zu aktuellen Mißbildungsproblemen Arzneim.Forsch.14:605-655,1964
137	Sindan, J.A. u. Longwell, B.B.	Effect of alloxan diabetes on fertility and gestation in the rat Proc.Soc.Exp.Biol.Med.70:607-610, 1947
138	Smithells, R.W.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet I:591,1962
139	Smithells, R.W.	Thalidomide and malformations in Liverpool Lancet I:1270-1273,1962
140	Solomon, F.	Embryomegaly and increased fetal mortality in pregnant rats with mild alloxan diabetes Diabetes 8:45-50,1959
141	Somers, G.F.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet I:912-913,1962
142	Somers, G.F.	zit.nach Beckmann (11)
143	Soukup, S. Takacs, E. u. Warkani, J.	Chromosome changes in embryos treated with various teratogens J.Embryol.Exp.Morph.18:215-226,1967
144	Spencer, K.E.V.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet II:100,1962

145	Staemmler u. Lagler	zit.nach Helm (58)
146	Staples, R.E. u. Holtkamp, D.E.	Effects of parenteral thalidomide treatment on gestation and fetal development Exp.Molec.Path.,Suppl.2:81-106,1963
147	Staples, R.E. u. Schnell, V.L.	Refinements in rapid clearing technic in the KOH-alizarin red S method for fetal bone Stain Technol.39:61-63,1964
148	Stockinger, L. u. Koch, H.	Teratologische Untersuchung einer neuen, dem Thalidomid strukturell nahestehenden sedativ-hypnotisch wirksamen Verbindung(K-2004) Arzneim.Forsch.19:167-169,1969
149	Szabo, K.T. u. Steelman, R.L.	Effects on maternal thalidomide treatment on pregnancy,fetal development, and mortality of the offspring in randombred mice Amer.J.Vet.Res.28:1823-1828,1967
150	Szabo, K.T. u. Steelman, R.L.	Effects of thalidomide treatment of inbred female mice on pregnancy,fetal development,and mortality of offspring Amer.J.Vet.Res.28:1829-1835,1967
151	Takano, K. Tanimura, T. u. Nishimura, H.	The susceptibility of the offspring of alloxan-diabetic mice to a teratogen J.Embryol.Exp.Morphol.14:63-73,1965
152	Takano, K. u. Nishimura, H.	Congenital malformations induced by alloxan diabetes in mice and rats Anat.Rec.158:303-312,1967
153	Thissen, E.	Extremitätenmißbildungen Münch.med.Wschr.104,2282-2288,1962
154	Toms, D.A.	Thalidomide and congenital abnormalities Lancet II:400,1962
155	Tuchmann-Duplessis, H. u. Mercier-Parot, L.	Repercussion d un somnifere,le glutethimide,sur la gestation et de developpement foetal du Rat, de la Souris, et du Lapin C.R.Acad.Sci.(Paris):256,1841-1843, 1963
156	Vickers, T.H.	The thalidomid embryopathy in hybrid rabbits Brit.J.Exp.Path.48:107-117,1967
157	Vickers, T.H.	Concerning the morphogenesis of thalidomide dysmelia in rabbits Brit.J.Exp.Path.48:579-591,1967
158	Vickers, T.H.	The cardiovascular malformations in the rabbit thalidomide embryopathy Brit.J.Exp.Path.49:173-197,1968

159	Watanabe, G. u. Ingalls, Th.H.	Congenital malformations in the offspring of alloxan-diabetic mice Diabetes 12:66-72,1963
160	Wellmann, K.F. Volk, B.W. u. Lazarus, S.S.	Ultrastructural pancreatic beta-cell changes in rabbits after small and large doses of alloxan Diabetes 16:242-251,1967
161	Wellmann, K.F. u. Volk, B.W.	Neues vom Alloxan: Experimenteller latenter Diabetes und Strahlenschutzwirkung Dtsch.med.Wschr.92:1283-1285,1967
162	Weicker, H. Bachmann, K.D. Pfeiffer, R.A. u. Gleiß, J.	Thalidomid-Embryopathie Dtsch.med.Wschr.87:1559-1606,1962
163	Weicker, H.	Das sogenannte Dysmelie-Syndrom (Thalidomid-Embryopathie) und seine Differentialdiagnose Wien.med.Wschr.117:387-390,1967
164	Wiedemann, H.R.	Klinische Bemerkungen zur pharmakogenen Teratogenese Bull.schweiz.Acad.med.Wiss.20:544-564,1964
165	Williams, R.T.	Teratogenic effects of thalidomide an related substances Lancet II:723-724,1963
166	Williams, R.T.	Thalidomide,a study of biochemical teratogenesis Arch.Environ.Health 16:493-502,1968
167	Wilson, G.J. u. Gavan, J.A.	Congenital malformations in nonhuman primates:spontaneous and experimentally induced Anat.Rec.158:99-110,1967
168	Wilson, J.S.P. u. Vallance-Owen, J.	Congenital deformities and insulin antagonism Lancet II:940-941,1966
169	Wuest, H.M. Sigg, E.B. u. Fratta, I.	Pharmacological properties and teratogenic action of 2(hexahydrophthalimido) glutarimide and 2-phthalimido-N-methylglutarimide Life Sci.3:721-730,1964
170	Wuest, H.M. Fratta, I. u. Sigg, E.B.	Teratological studies in the thalidomide field Life Sci.5:393-396,1966
171	Wuest, H.M. Fox, R.R. u. Crary, D.D.	Relationship between teratogeny and structure in the thalidomide field Experientia 24:993-994,1968
172	Zimmermann, W.	Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keim und Umwelt beim Kaninchen Arzneim.Forsch.15:1029-1034,1965

173 Zucker, H.D. Alloxan subdiabetes in rabbits by modification of glucose tolerance by adrenal cortex extract
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.71:597-601, 1949

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. R. Riemschneider,

möchte ich an dieser Stelle danken für viele Anregungen und stetes förderndes Interesse bei der Durchführung dieser Arbeit sowie für die Bereitstellung der erforderlichen Mittel. Gleichzeitig möchte ich auch

Herrn Professor Dr. Dr. K. Drepper

für die Unterstützung dieser Dissertation meinen Dank aussprechen.

Lebenslauf

Am 30. Juli 1934 wurde ich in Rostock als Sohn des Landwirts Wilhelm Trost und seiner Ehefrau Frieda, geb. Grützmacher, geboren. Meine 1941 begonnene Schulzeit schloß ich in Wismar am 14. Juni 1953 mit der Reifeprüfung ab. Danach arbeitete ich ein Jahr lang am Institut für Tierzuchtforschung in Dummerstorf bei Rostock. 1954 zog ich nach Westberlin und besuchte hier einen Sonderlehrgang zur Anerkennung meines Abiturs. Vom 15. November 1955 bis 9. Mai 1961 studierte ich an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin, an der ich im Mai 1960 das tierärztliche Staatsexamen ablegte. Meine Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 16. Mai 1961 in Berlin. Danach war ich ein Jahr Assistent in der Groß- und Kleintierpraxis bei Herrn Dr. Warnecke in Malente-Gremsmühlen. Seit 1962 bin ich im Institut für Biochemie der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Freien Universität als Tierarzt tätig.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33